

Harnsäure und Insulinsekretion

von
Hans Worliceck
aus
Würzburg

1070 B 04



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

Harnsäure und Insulinsekretion

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt
von
Hans Worlicek
aus
Würzburg

Gedruckt

mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin

der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Priv. Doz. Dr. W. Grabner

Korreferent: Prof. Dr. L. Demling

Tag der mündlichen Prüfung: 18.01.1979

Inhalt

Seite

1.	Einleitung	1
	Teil I	
2.	Insulinsekretion - theoretische und experimentelle Grundlagen	3
2.1.	Sekretionsablauf	3
2.1.1.	Zwei-Phasennatur der Insulinsekretion	3
2.1.2.	Arbeitshypothesen zum Mechanismus der Insulinsekretion	4
2.1.2.1.	Insulininduzierte Rückkopplungshemmung	4
2.1.2.2.	Glukoseinduzierte Rückkopplungshemmung	5
2.1.2.3.	Zwei-Kompartiment-Theorie	7
2.2.	Sekretionshemmende und sekretionsfördernde Wirkstoffe	19
2.2.1.	Wirkstoffe mit hemmendem Einfluß auf die Insulinsekretion	21
2.2.2.	Wirkstoffe mit förderndem Einfluß auf die Insulinsekretion	27
2.3.	Arbeitshypothesen zum Ablauf der Insulinsekretion	36
2.3.1.	Glukose	36
2.3.1.1.	Glukosemetabolismus	36
2.3.1.1.1.	Energiebereitstellung	37
2.3.1.1.2.	Pentosephosphatshunt	37
2.3.1.2.	Rezeptorhypothese	38
2.3.2.	Zyklisches AMP	39
2.3.2.1.	Glukose und zyklisches AMP	40
2.3.2.2.	Methylxanthine und zyklisches AMP	40
2.3.2.3.	Hormone und zyklisches AMP	41

	Seite
2.3.3.	Calcium-Ionen 41
2.3.3.1.	Intrazelluläre Anreicherung von Calcium-Ionen 41
2.3.3.2.	Intrazelluläre Verschiebung von Calcium-Ionen 42
2.3.3.3.	Zusammenspiel von intrazellulärer Anreicherung und intrazellulärer Verschiebung der Calcium-Ionen 43
2.3.4.	Glykogen 44
2.3.5.	Morphologische Aspekte 44
2.4.	Tierexperimentelle Versuchsmodelle zum Nachweis der Insulinsekretion 47
2.4.1.	Inkubation isolierter Inselzellen und präparierter Pankreaspartikel 47
2.4.2.	Perifusion isolierter Inselzellen und präparierter Pankreaspartikel 47
2.4.3.	Perfusion isolierter Bauchspeicheldrüsen 48

Teil II

3.	Untersuchungen zum Einfluß von Harnsäure auf die Insulinsekretion der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse	50
3.1.	Fragestellung	50
3.2.	Material und Methode	52
3.2.1.	Bereitstellung des Organpräparates	52
3.2.1.1.	Versuchstiere	52
3.2.1.2.	Anatomische Grundlagen	52
3.2.1.3.	Präparationstechnik	54
3.2.2.	Perfusionsmedium	69
3.2.3.	Versuchsanlage	71
3.2.4.	Durchführung der Versuche	75

	Seite
3.2.4.1.	Vorbereitung der Versuchsanlage 75
3.2.4.2.	Organanschluß und Einleiten der Perfusion 75
3.2.5.	Auswertung der Versuche 82
3.2.5.1.	Meßmethoden 82
3.2.5.1.1.	Insulinbestimmung 82
3.2.5.1.2.	Glukosebestimmung 84
3.2.5.1.3.	Harnsäurebestimmung 84
3.2.5.1.4.	Lactatbestimmung 84
3.2.5.2.	Mikroskopische Untersuchungen 85
3.2.5.2.1.	Lichtmikroskopische Untersuchungen 85
3.2.5.2.2.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen 85
3.2.5.3.	Statistische Methoden 86
3.3.	Untersuchungen zur Brauchbarkeit und Standardisierung des Perfusionsmodells 87
3.3.1.	Vorversuche 87
3.3.1.1.	Untersuchungen zum Sekretionsablauf 87
3.3.1.2.	Untersuchungen zur Leistungsdauer des iso- lierten Organs 90
3.3.1.3.	Untersuchungen zum Nachweis der Insulinse- kretion als Reaktion auf den Glukosestimulus 92
3.3.1.4.	Untersuchungen zum Verhalten der Insulinse- kretion unter dem Einfluß verschiedener Glu- kosekonzentrationen 92
3.3.1.5.	Untersuchungen zum Nachweis der Insulinse- kretion unter dem Einfluß von Glukose und dem Sulfonylharnstoff Glibenclamid 96
3.3.2.	Kriterien zur Beurteilung der morphologischen und funktionellen Integrität des Organpräparates 98
3.3.2.1.	Morphologische Kriterien 98
3.3.2.1.1.	Lichtmikroskopische Untersuchungen 98
3.3.2.1.2.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen 98
3.3.2.1.3.	Vaskuläre Integrität 104

	Seite
3.3.2.2. Funktionelle Kriterien	104
3.3.2.2.1. Organspezifische Sekretionscharakteristik	104
3.3.2.2.2. Lactatmessung	105
3.3.2.2.3. Sauerstoffverbrauch	107
3.3.2.2.4. Perfusionsdruck	107
3.4. Pankreasperfusionen mit Harnsäure	109
3.4.1. Versuchsbedingungen	109
3.4.1.1. Perfusatzusätze	109
3.4.1.2. Gewicht der Versuchstiere	109
3.4.1.3. Sammelperioden	109
3.4.1.4. Einleiten der Hauptperfusion	110
3.4.1.5. Perfusionsdruck	110
3.4.1.6. Effektive Flußrate	111
3.4.1.7. Volumenverlust durch Sekretion und Diffusion	111
3.4.2. Ergebnisse	112
3.4.2.1. Insulinsekretionsstudien	112
3.4.2.1.1. Versuchsserie I	112
3.4.2.1.2. Versuchsserie II	114
3.4.2.1.3. Versuchsserie III	117
3.4.2.1.4. Versuchsserie IV	119
3.4.2.2. Elektronenoptische Studien	121
4. Diskussion	129
4.1. Methode	129
4.2. Ergebnisse	139
Teil III	
5. Beziehungen zwischen Störungen des Harnsäure- und des Glukosestoffwechsels	144
5.1. Diabetesmorbidity bei Gicht	144
5.2. Gichtmorbidity bei Diabetes mellitus	144
5.3. Harnsäure eine diabetogene Substanz?	145

5.4.	Genetische Faktoren als Ursache für das gemeinsame Vorkommen von Diabetes mellitus und Gicht	148
5.5.	Fettsucht und Hypertriglyceridämie als disponierende Faktoren bei Diabetes mellitus und Gicht	148
5.6.	Wechselwirkungen zwischen Störungen des Harnsäure- und des Glukosestoffwechsels	150
5.6.1.	Hyperurikämie - ein Schutzfaktor gegenüber der Diabetesmanifestation	150
5.6.2.	Diabetesmanifestation und gesteigerte Harnsäure-Clearance	152
5.7.	Arbeitshypothesen über die Zusammenhänge zwischen Störungen des Harnsäure- und des Glukosestoffwechsels	153
6.	Zusammenfassung	156
7.	Tabellen	159
8.	Literatur	174

Aufgrund seiner antigenen Eigenschaften war es Ende der fünfziger Jahre möglich geworden, das B-Zellen-Hormon Insulin radioimmunologisch zu bestimmen. Begründer dieser heute weltweit anerkannten Technik waren Yalow und Berson, die der Insulinforschung mit ihrer Pionierleistung zahlreiche neue Impulse gaben (255). Viele bis dahin noch ungelöste Fragen konnten beantwortet werden. Das von verschiedenen Arbeitsgruppen verfolgte Ziel, den Ablauf der Insulinsekretion genauer studieren zu können, war in greifbare Nähe gerückt.

Es zeigte sich sehr bald, daß die Insulinfreisetzung eine typische Charakteristik aufweist. Einer ersten kurzzeitigen Sekretionsphase folgt eine zweite von bedeutend längerer Dauer (19,91,92). Dieser biphasische Verlauf entspricht nach der heutigen Auffassung der Insulinausschüttung aus einem Zwei-Pool-System (55,97,98,101, 158). Inzwischen haben zahlreiche in vivo- und in vitro-Versuche die fraktionierte Insulinsekretion experimentell bestätigt (36,43,55,57, 66,70,76,97,99,164). Während der ersten Phase wird vor allem schnell verfügbares, während der zweiten Phase verzögert bereitgestelltes Insulin freigesetzt (55). Die Sekretion aus dem ersten Pool ist gegenüber der aus dem zweiten Pool vergleichsweise gering (96,97,98).

Zahlreiche Wirkstoffe sind geeignet, die Insulinsekretion zu beeinflussen. Hierbei muß zwischen hemmenden und stimulierenden bzw. potenzierenden Substanzen unterschieden werden. Zu den Hemmstoffen der Insulinsekretion zählen Diazoxid (72,121,232), biogene Amine (53,173,184,202,254), Hemmstoffe des Kohlenhydratabbaus (151,152,162,169,170), Anästhetika (12), Somatostatin (67,209), Heparin (69), Phenazin-Methosulfat (53), p-Phenylen-Diamin (53), Salizylate (53), Cyproheptadin (134,135),

Cyanid (170), 2,4-Dinitrophenol (53,170) und Insulin selbst (5,111,129,162,222,234).

Einen stimulierenden bzw. potenzierenden Effekt haben Glukose (19,88,99,165) und einige andere Zucker (88,112,162,219,236), Sulfonylharnstoffe (55,99,163,165,186), Methylxanthine (2,8,74,149,151,152,202,247,249), verschiedene Hormone (19,36,57,79,145,149,157,169,215,221,238,77,216,239,244,245), einige Aminosäuren (36,199,207) und Elektrolyte (54,90,101,112), Adenosin-triphosphat (224,237) und zyklisches Adenosinmonophosphat (50,112,237), ein Teil der Chelatbildner (207), Metaboliten des Kohlenhydratabbaus (53,78,151,223), Acetylcholin (166) und Prostaglandine (133).

In einem ersten theoretischen Teil der Arbeit werden die bislang gewonnenen Erkenntnisse über Beeinflußbarkeit und Mechanismen der Insulinsekretion zusammenfassend dargestellt.

In einem zweiten experimentellen Teil der Arbeit wird anhand von Perfusionsexperimenten untersucht, ob die Insulinsekretion auch dem Einfluß von Harnsäure unterliegt. Diese Frage ergab sich vor allem aus der engen Strukturverwandtschaft der Harnsäure mit Methylxanthinen, von denen insulinsekretionssteigernde Eigenschaften bekannt sind. Da bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine vergleichbaren Untersuchungen mit Harnsäure vorliegen, erschien es gerechtfertigt, eine solche Studie durchzuführen.

Ein dritter Teil der Arbeit nimmt zu bislang diskutierten Beziehungen zwischen Störungen des Harnsäure- und Glukosestoffwechsels Stellung.

TEIL I

2. Insulinsekretion - theoretische und experimentelle Grundlagen

2.1. Sekretionsablauf

2.1.1. Zwei-Phasennatur der Insulinsekretion

Die Beobachtung, daß die Insulinsekretion unter dem Einfluß konstanter stimulierender Glukosekonzentrationen in zwei Phasen verläuft, gilt heute als weitgehend gesichert. Ein erstes Sekretionsmaximum läßt sich etwa 30 bis 60 Sekunden nach Stimulationsbeginn nachweisen (97). Trotz gleichbleibender und fortdauernder B-Zellen-Stimulation nimmt die Gipfelsekretion bereits nach 2 bis 3 Minuten wieder ab (55, 88, 91, 93). Insgesamt dürfte die erste Sekretionsphase einen Zeitraum von 5 bis 10 Minuten nicht überschreiten (70, 99, 102, 165, 217). Die hierbei freigesetzte Insulinmenge beträgt etwa 2 bis 3 Prozent des insulären Insulingehaltes. Das Nachlassen der Hormonfreisetzung am Ende der ersten Sekretionsphase kann also nicht durch Erschöpfung des Insulinvorrates bedingt sein (91).

Da Puromycin, ein Hemmstoff der Eiweißsynthese, keinen Einfluß auf diese erste Sekretionsphase hat (55, 96), wird angenommen, daß das initial freigesetzte Insulin kein neu-synthetisiertes Hormon sein kann, sondern am ehesten präformiertem, sekretionsbereitem Insulin entspricht (55). Die zum Studium des Sekretionsablaufs durchgeführten elektronenoptischen Untersuchungen von Lee und Mitarbeitern stützen diese Auffassung (158).

Unmittelbar nach Ablauf der ersten Sekretionsphase verhält sich die B-Zelle selbst gegenüber einer zusätzlichen Stimulation mit höheren Glukosekonzentrationen weitgehend refraktär (97).

Erst in der Folgezeit kommt es zu einer zweiten Sekretionsphase, die durch einen protrahierten Anstieg des Hormonspiegels und durch insgesamt niedrigere, jedoch länger persistierende Maximalwerte gekennzeichnet ist. Im Gegensatz zur ersten Sekretionsphase führt der Zusatz von Puromycin zum Perfusat in der zweiten Sekretionsphase zu einer partiellen Hemmung der Insulinfreisetzung (55,96).

Die allgemein anerkannte Zwei-Phasencharakteristik der Insulinsekretion wurde bisher lediglich von Yoshikuni-Fujita in Frage gestellt. Seiner Auffassung nach handelt es sich dabei um eine allein im Experiment induzierbare Erscheinung (75).

2.1.2. Arbeitshypothesen zum Mechanismus der Insulinsekretion

Für den Zwei-Phasenverlauf der Insulinsekretion werden folgende Arbeitshypothesen diskutiert:

eine Rückkopplungshemmung durch Insulin,
eine Rückkopplungshemmung durch Glukose,
die Zwei-Kompartiment-Theorie.

2.1.2.1. Insulininduzierte Rückkopplungshemmung

Der Zwei-Phasenverlauf der Insulinsekretion entsteht nach dieser Arbeitshypothese durch einfache Rückkopplungshemmung über das freigesetzte Insulin (129). Hierbei wird zunächst davon ausgegangen, daß die Höhe der Glukosekonzentration das quantitative Ausmaß der Hormonsekretion bestimmt (Proportionalregelung). Das freigesetzte Insulin soll dann über einen negativen Rückkopplungsmechanismus seine weitere Freisetzung aus der B-Zelle hemmen (129,234). Für diese Annahme sprechen Untersuchungen von Hahn und Michael an inkubierten isolierten Inseln normaler weißer Inzuchtmäuse. Die Autoren konnten nachweisen, daß ansteigende Insulinkonzentrationen im Inkubationsmedium

eine zunehmende Hemmung der Insulinfreisetzung bewirken. Bei Verminderung der Insulinkonzentration im Medium war die Hemmung reversibel (111). Ammon und Verspohl (5), sowie Iversen und Miles (129), die dem Versuchsmedium unterschiedliche Mengen exogenen Insulins hinzufügten, kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Auch Rappaport (222), Sodoyez (234), Assal (10) und Loubatières (162) konnten eine durch exogene Insulinanreicherung provozierte Abnahme der endogenen Hormonsekretion nachweisen. Demgegenüber vertraten Grodsky und Mitarbeiter die Ansicht, daß ein solcher negativer Rückkopplungsmechanismus keine Bedeutung für die Zwei-Phasennatur der Insulinsekretion haben könne. Belegt wurde diese Auffassung anhand von Perfusionsversuchen mit Glukose und Tolbutamid unter gleichzeitigem Zusatz verschieden hoher Ratteninsulinkonzentrationen. Hierbei zeigte sich, daß der charakteristische Ablauf der Insulinsekretion weder quantitativ noch qualitativ beeinflußt wurde (102).

2.1.2.2. Glukoseinduzierte Rückkopplungshemmung

Die Arbeitshypothese der glukoseinduzierten Rückkopplungshemmung (91) geht davon aus, daß die jeweils ausgelöste Gesamtsekretion des B-Zellen-Hormons eine direkte Funktion der einwirkenden Glukosekonzentration ist. Zugleich wird angenommen, daß die Rückkopplungshemmung über einen bisher noch unbekannten, ebenfalls glukoseinduzierten Hemmfaktor vermittelt wird, der seine Wirkung mit geringer zeitlicher Verzögerung entfaltet (19, 55, 91, 94, 97). Unmittelbare Folge der plötzlich einsetzenden Hemmwirkung wäre ein vorübergehend refraktäres Verhalten der B-Zellen, das im Anschluß an die initiale Insulinfreisetzung zur Wirkung kommt (19).

Daß ein derartiges Modell seine Berechtigung hat (104), konnte Grodsky anhand eines Perfusionsversuches demonstrieren, bei dem nach 10 Minuten anhaltender Stimulation mit Glukose in einer Konzentration von 400 mg/100 ml die Glukosekonzentration abrupt auf 200 mg/100 ml gesenkt wurde. Hierbei kam es zu einem unerwartet starken Abfall der Insulinsekretion, möglicherweise hervorgerufen durch einen bereits vorher durch die hohe Glukosekonzentration stimulierten Hemmfaktor bei nunmehr verminderter Glukosekonzentration im Medium. Wenn dann in der Folgezeit der durch die initial hohe Glukosekonzentration von 400 mg/100 ml ausgelöste Hemmechanismus an Wirksamkeit verliert und sich an die herabgesetzte Glukosekonzentration von 200 mg/100 ml adaptiert hat, nimmt die Insulinsekretion wieder zu. Das nunmehr erreichte Niveau repräsentiert das Gleichgewicht zwischen der stimulierenden Glukosekonzentration von 200 mg/100 ml und dem hierbei wirksamen Einfluß des Hemmfaktors (19). Dieses Sekretionsverhalten steht im Einklang mit Ergebnissen, die Grodsky und Bennett aufgrund theoretischer Erwägungen mit Hilfe eines Computermodells vorausgesagt hatten (19).

Eine weitere Versuchsanordnung mit einer stimulierenden Glukosekonzentration von zunächst 200 mg/100 ml (10 Minuten) und anschließender Erhöhung der Glukosekonzentration auf 400 mg/100 ml ergab einen kurzfristig überschießenden Anstieg der Insulinsekretion. Dieser Effekt wird von Grodsky damit erklärt, daß die Wirkung des Hemmfaktors bei niedriger Glukosekonzentration vergleichsweise gering ist und somit die Voraussetzung gegeben ist, daß eine plötzlich einsetzende Zunahme der Stimulationsintensität eine vorübergehend überschießende Insulinfreisetzung bewirkt. Erst bei Fortdauer der B-Zellen-Stimulation mit der höheren Glukosekonzentration von 400 mg/100 ml kommt es durch die postulierte Zunahme der Hemmaktivität zur Einstellung auf ein neues, niedrigeres Gleichgewichtsniveau (19).

2.1.2.3. Zwei-Kompartiment-Theorie

Die biphasische Charakteristik der Insulinsekretion wird nach dieser Theorie mit der Existenz zweier insulinspeichernder Kompartimente erklärt, von denen ein kleines, labiles Kompartiment besonders empfindlich auf stimulierende Substanzen reagieren soll (97,98). Das Zwei-Kompartiment-Modell wurde in zahlreichen Versuchsreihen getestet. Die meisten Sekretionsphänomene können hiermit erklärt werden. Voraussetzung für das Postulat eines solchen Modells waren zwei Versuche.

Ein erster, bereits erwähnter Versuch am isoliert perfundierten Rattenpankreas ergab, daß der Zusatz von Puromycin zum Perfusat lediglich die glukosestimulierte Insulinsekretion während der zweiten Sekretionsphase, nicht aber die während der ersten Sekretionsphase vermindert. Aufgrund dieser Beobachtung war es denkbar, daß die Hormonfreisetzung aus verschiedenen Kompartimenten erfolgt (55,96).

Auch als Modell für den zweiten Versuch diente das isoliert perfundierte Rattenpankreas, das mit der sehr hohen Glukosekonzentration von 400 mg/100 ml durchströmt wurde. Durch Zusatz einer nur geringen Calciummenge (0,5 mÄq/l) wurde die initiale Insulinsekretion deutlich vermindert. Nach einer Perfusionsdauer von etwa drei Minuten, also zu einem Zeitpunkt mit weitgehend refraktärem Verhalten der B-Zelle auf den Glukosereiz, wurde die Hormonfreisetzung durch Erhöhung der Calciumkonzentration im Perfusat (3,5 mÄq/l) wieder gesteigert. Daher konnte aus diesem Versuch die Schlußfolgerung gezogen werden, daß durch Steigerung der vorher sehr niedrigen Calciumionenkonzentration auf physiologische Werte die zunächst blockierte Insulinsekretion

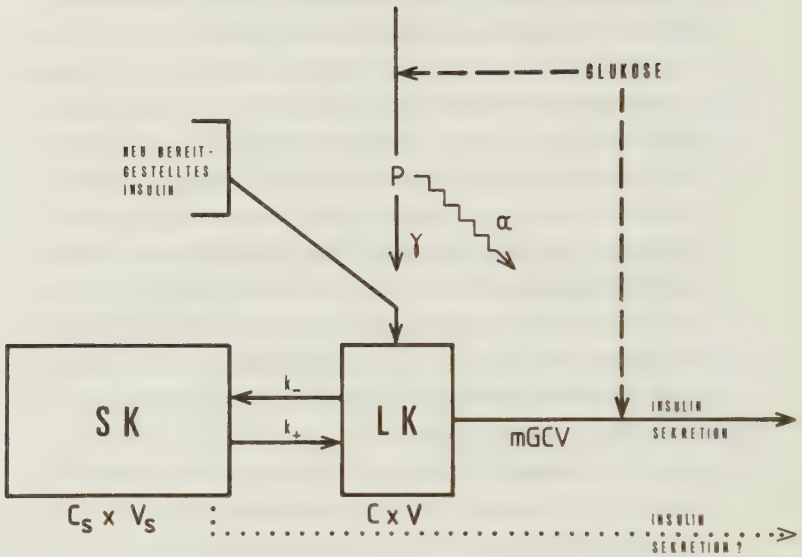


Abb. 1

Schematische Darstellung zum "Two-compartmental model"
der Insulinsekretion nach Grodsky (97,98)

(Zeichenerklärung auf Seite 9)

zu Abb. 1

SK:	Großes, stabiles Speicherkompartiment
C_s :	Insulinkonzentration von SK
V_s :	Volumen von SK
$C_s \times V_s$:	In SK gespeicherte Insulinmenge
LK:	Kleines, labiles Speicherkompartiment
C:	Insulinkonzentration von LK
V:	Volumen von LK
$C \times V$:	In LK gespeicherte Insulinmenge
k_+ , k_- :	Konstanten für die Insulinaustauschrate zwischen den beiden Kompartimenten
P:	Konzentration des Potentiators
α :	Konstante für die Potentiatorinaktivierung
γ :	Konstante für die Potentiatoraktivität
m:	Aktivitätskonstante für die Freisetzung von Insulin durch Glukose
G:	Glukosekonzentration im Perfusat

Weitere Erklärungen sind dem Text zu entnehmen.

aus dem postulierten labilen Speicherkompartiment wieder freigegeben wird, die stimulierende Wirkung der Glukose also nur in Gegenwart normaler Calciumkonzentrationen eintreten kann (55). Vorausgesetzt, die refraktäre Phase der Insulinsekretion wäre die Folge einer glukoseinduzierten Hemmung, hätte die Sekretionsrate bei der gewählten Versuchsanordnung trotz Zugabe des Calciums weiter abnehmen müssen (55).

Die beschriebenen Beobachtungen veranlaßten Grodsky und Mitarbeiter im Jahre 1968, das "Two-compartmental model" der Insulinsekretion vorzustellen (98), das später durch verschiedene mathematische Berechnungen genauer definiert wurde (97,100). Der Modellvorstellung zufolge ist der größte Teil des pankreatischen Insulins (98 %) in einem großen, stabilen Kompartiment ($C_s V_s$), der weitaus geringere Teil (2 %) in einem kleinen, labilen Kompartiment (CV) gespeichert. Zwischen den Hormonkonzentrationen beider Kompartimente (C und C_s) besteht ein Fließgleichgewicht. Die erste Phase der Insulinsekretion ist allein die Aufgabe des kleinen, labilen Kompartiments (CV), das auf B-Zellen-stimulierende Einflüsse äußerst sensibel reagiert. Das Ausmaß seiner Hormonfreisetzung ($mGCV$) ist abhängig vom Insulingehalt und von der Konzentration der jeweils wirksamen stimulierenden Substanz (97,98 - Abb. 1). Es fanden sich Hinweise, daß das kleine, labile Kompartiment aus einer Vielzahl von Speichereinheiten mit verschiedenen Stimulationsschwellen besteht, die nach einer linksschiefen Gauss-Kurve verteilt sind. Die meisten Speichereinheiten reagieren bei mittleren Glukosekonzentrationen zwischen 110 und 250 mg/100 ml. Nur wenige Speichereinheiten werden erst bei Glukosekonzentrationen über 300 mg/100 ml entleert (Abb. 2). Die Beziehung zwischen stimulierender

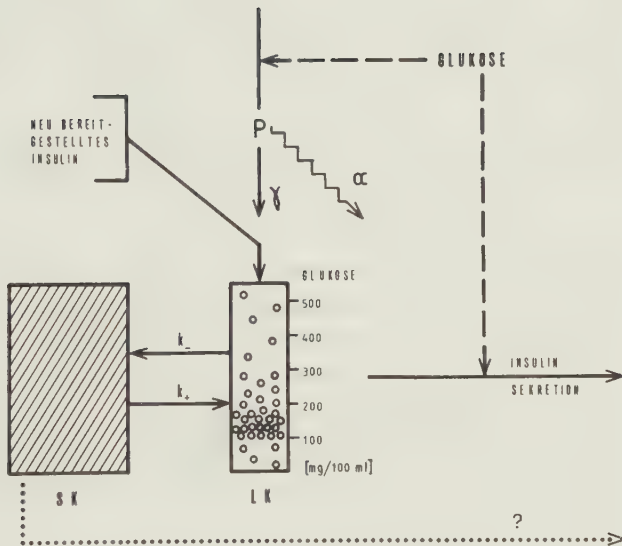


Abb. 2

Schematische Darstellung zum "Two-compartmental model" der Insulinsekretion nach Grodsky (100, 101)

Das kleine, labile Kompartiment besteht aus einer Vielzahl von Speichereinheiten mit unterschiedlichen Stimulationsschwellen.

SK: Großes, stabiles Speicherkompartiment

LK: Kleines, labiles Speicherkompartiment

k_+ , k_- : Konstanten für die Insulinaustauschrate zwischen den beiden Kompartimenten

P: Konzentration des Potentiators

α : Konstante für die Potentiatorinaktivierung

γ : Konstante für die Potentiatoraktivität

Weitere Erklärungen sind dem Text zu entnehmen.

Glukosekonzentration und Anzahl stimulierter Speichereinheiten ist durch einen S-förmigen Kurvenverlauf charakterisiert. Zwischen der Anzahl stimulierter Speichereinheiten und der Menge sezernierten Insulins besteht eine direkte Beziehung (100, 101, 104 - Abb. 4).

Matthews und Dean sind der Auffassung, daß nicht einzelne Speichereinheiten innerhalb der B-Zellen, sondern die B-Zellen selbst unterschiedliche Stimulationsschwellen besitzen (192).

Einige Substanzen, wie z. B. Glukose, bewirken nicht nur eine Entleerung, sondern auch eine Wiederauffüllung des kleinen Kompartiments (98). Für das Verständnis dieses Phänomens wird vorausgesetzt, daß Glukose die Konzentration eines Potentiators (P) erhöht, welcher die Geschwindigkeit (γP) bestimmt, mit der das kleine Kompartiment erneut mit Insulin aufgefüllt wird. Unabhängig vom Erfolg seiner Wirkung wird der Potentiators mit der Geschwindigkeit αP inaktiviert (98 - Abb. 1 und 3).

Die relativ refraktäre Phase der Hormonsekretion ist nach dieser Arbeitshypothese Folge der Entleerung des labilen Kompartiments zu einem Zeitpunkt, an dem die potentiatorvermittelte Nachlieferung von Insulin noch nicht in genügendem Maße eingesetzt hat. Sobald dies der Fall ist, beginnt die zweite Phase der Hormonsekretion (97). Welchen Ursprungs das Insulin ist, mit dem das kleine Kompartiment versorgt wird, kann mit diesem Modell nicht erklärt werden. Es könnte sich um neu synthetisiertes (122), aber auch um aus Vorstufen aktiviertes Insulin handeln (235).

Denkbar wäre auch eine Verschiebung von gespeichertem Insulin aus dem großen in das kleine Kompartiment. Für diesen Vorgang müßte jedoch gefordert werden, daß der postulierte Potentiators einen solchen Transfer fördert (97 - Abb. 3).

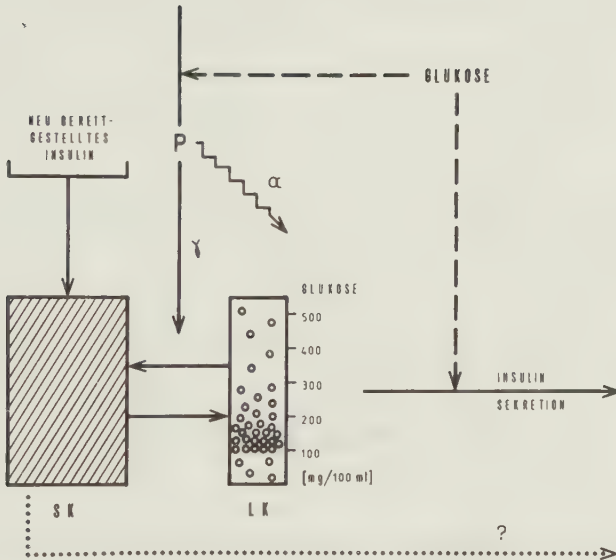


Abb. 3

Schematische Darstellung zum "Two-compartmental model" der Insulinsekretion nach Grodsky (100,101,104)

Der Potentiator fördert die Verschiebung von Insulin aus dem großen, stabilen Kompartiment in das kleine, labile Kompartiment.

SK: Großes, stabiles Speicherkompartiment

LK: Kleines, labiles Speicherkompartiment

P: Konzentration des Potentiators

α : Konstante für die Potentiatorinaktivierung

γ : Konstante für die Potentiatoraktivität

Weitere Erklärungen sind dem Text zu entnehmen.

Die Geschwindigkeit, mit der sich der Insulingehalt des kleinen Kompartiments während der Stimulation mit Glukose ändert, wird von Grodsky und Mitarbeitern nach folgender Formel berechnet (97):

$$V \frac{dC}{dt} = k_+ C_s - k_- C + \gamma PV - mGCV$$

Diese Formel besitzt jedoch nur unter der Voraussetzung Gültigkeit, daß der Austausch von Insulin zwischen den beiden Kompartimenten reversibel ist. Hierbei bedeuten:

C	=	Insulinkonzentration des kleinen, labilen Kompartiments
V	=	Volumen des kleinen, labilen Kompartiments
C _s	=	Insulinkonzentration des großen, stabilen Kompartiments
t	=	Zeit
k ₊ , k ₋	=	Konstanten für die Insulinaustauschrate zwischen beiden Kompartimenten
G	=	Glukosekonzentration im Perfusat
m	=	Aktivitätskonstante für die Freisetzung von Insulin durch Glukose
P	=	Konzentration des Potentiators
γ	=	Konstante für die Potentiatoraktivität
mGCV	=	Insulinsekretion

Der Konstanten γ wird der relativ kleine Wert von 0,011 min⁻¹ zugeordnet. Da die Konzentration des Potentiators während der Stimulationsversuche ständig zunimmt und demzufolge auch das Produkt γ x P zunehmend größer wird, steigt die dem kleinen Kompartiment pro Zeiteinheit zugeführte Insulinmenge kontinuierlich an. Auch die Konstante α hat mit 0,024 min⁻¹ einen sehr niedrigen Wert. Hieraus erklärt sich die nur langsame Abnahme der Potentiatoraktivität (97).

Anhand der beschriebenen Modellvorstellung wurden von Grodsky und Mitarbeitern auch die nachfolgend dargestellten Sekretionsvorgänge interpretiert.

So läßt eine über 50 Minuten durchgeführte Perfusion des Rattenpankreas mit glukosehaltigem Medium und nachfolgender glukosefreier Durchströmung nach der Arbeitshypothese des Kompartimentsystems erwarten, daß mit ausbleibender Wirkung des Glukosestimulus Insulinsekretion und Potentiatorneubildung stagnieren. Daß damit aber nicht gleichzeitig ein Ruhezustand der B-Zelle erreicht ist, erklärt sich aus dem nur langsamen Abbau des Potentiators und der damit verbundenen weiteren Auffüllung des kleinen Kompartiments mit Insulin. Da das Hormon von hier nur sehr langsam in das große Kompartiment abströmt, nimmt die Insulinkonzentration des kleinen Kompartiments weiter zu und kann sogar diejenige zu Beginn des Stimulationsversuches übersteigen. Daher kann die B-Zelle auf eine erneute Glukosestimulation mit verstärkter Sekretion reagieren.

Dementsprechend läßt sich im Experiment zeigen, daß nach einer kurzen Unterbrechung von 5 Minuten bei vorausgegangener Perfusion mit einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml eine Sekretionsrate erzielt wird, die größer ist als die initiale (97).

Auch das Sekretionsverhalten, das sich bei Stimulation mit Tolbutamid nachweisen läßt, kann mit Hilfe des Zwei-Kompartiment-Modells erklärt werden.

Tolbutamid ruft im Gegensatz zu Glukose zwar eine deutlich ausgeprägte initiale Insulinfreisetzung hervor, im weiteren Verlauf finden sich hingegen nur sehr geringe Sekretionsraten (55, 91, 97). Überträgt man dieses Verhalten auf das beschriebene Modell, müßte gefolgert werden, daß Tolbutamid die Sekretion

gespeicherten Insulins aus dem kleinen Kompartiment induziert, auf den Potentiator jedoch keinen oder keinen nennenswerten Einfluß hat. Die nur sehr niedrige Sekretionsrate nach der initialen Insulinfreisetzung könnte unter den Bedingungen des Fließgleichgewichtes dem langsamen Transfer von Insulin aus dem großen in das kleine Kompartiment entsprechen (98). Wird das Rattenpankreas 30 Minuten mit Tolbutamid und im Anschluß daran 25 Minuten tolbutamidfrei durchströmt, so kommt es nur während der Sulfonylharnstoffeinwirkung, nicht aber in der Folgezeit zu einer Insulinsekretion. Setzt man dem Perfusionsmedium dann erneut Tolbutamid zu, so erscheint eine weitere, im Vergleich zur initialen Sekretionsphase jedoch quantitativ geringere Insulinfreisetzung. Den Vorstellungen des Kompartiment-Modells entsprechend würde dies bedeuten, daß während der tolbutamid-freien Perfusionsperiode das kleine, labile Kompartiment nur langsam und unvollständig aus dem großen Kompartiment mit Hormon aufgefüllt wird und demzufolge bei erneuter Stimulation mit Tolbutamid eine im Vergleich zur initialen Sekretion nur geringe Insulinabgabe möglich ist. Setzt man bei der gewählten Versuchsanordnung die Tolbutamidstimulation mit Unterbrechungen von jeweils 10 Minuten in Form von kurz einwirkenden Impulsen fort, so lassen sich der geringeren Auffüllzeit entsprechend auch nur kleinere Sekretionspeaks auslösen (97,98). Eine Tolbutamidstimulation ist also nicht geeignet, eine hypersensible Reaktionslage der B-Zellen zu erzeugen, wie dies nach Absetzen der Glukosestimulation der Fall ist (97).

Da Tolbutamid keinen Einfluß auf die Synthese des Potentiators zu haben scheint, muß die Formel zur Berechnung der Geschwindigkeit, mit der sich der Insulingehalt des kleinen Kompartiments bei Stimulation mit dem Sulfonylharnstoff ändert, wie folgt abgewandelt werden (97,98):

$$V \frac{dC}{dt} = k_+ C_s - k_- C - m' TCV$$

Die Tolbutamidkonzentration im Perfusat geht hierbei als Faktor T in die Formel ein. Als Aktivitätskonstante für die Freisetzung von Insulin durch Tolbutamid wird m' eingesetzt. Der Faktor P wird nicht mehr berücksichtigt (97).

Falls der Nachweis gelingen sollte, daß Insulin seine eigene Freisetzung tatsächlich durch eine direkte Rückkopplungshemmung einschränkt, könnte das Prinzip des Zwei-Kompartiment-Modells in seinen wesentlichen Aussagen durchaus beibehalten werden (97). Dies gilt auch für die von Grodsky bereits früher konzipierte Theorie der stimulatorinduzierten Rückkopplungshemmung und gegebenenfalls auch für andere gegenregulatorisch wirksame Mechanismen (97). Die vereinfachte Darstellung des Potentiators als komplexe Einheit darf nicht darüber hinwegtäuschen, daß es sich in Wirklichkeit um ein hochdifferenziertes System einer getriggerten Kettenreaktion handeln dürfte (97).

Das morphologische Substrat des kleinen Kompartiments ist noch nicht sicher identifiziert. Von Grodsky (101) werden vor allem die hellen Granula (17,156), darüberhinaus aber auch die den Mikrotubuli angelagerten Granula (144) diskutiert. Zudem könnten seiner Auffassung nach Beziehungen zu den Mikrobläschen im Bereich des Golgi-Apparates bestehen (132,210).

Unter Berücksichtigung der Zwei-Kompartiment-Theorie kamen Malaisse und Mitarbeiter zu der Überzeugung, daß die ultrastrukturelle Basis der Zwei-Phasensekretion im mikrotubulär-mikrofilamentösen System zu suchen sei. Danach werden die Insulingranula in der nicht stimulierten B-Zelle durch das der Plasmamembran angelagerte mikrofilamentöse Zellgewebe an der Emiozytose gehindert. Während der ersten Sekretionsphase nehmen vorwiegend

diejenigen Granula an der Insulinausschüttung teil, die bereits in unmittelbarer Nähe des mikrofilamentösen Zellgewebes lokalisiert sind. Sie stellen möglicherweise das histologische Korrelat des kleinen Kompartiments dar. In der zweiten Sekretionsphase wird hauptsächlich das Insulin freigegeben, das den Sekretionsgranula entstammt, die entlang der Mikrotubuli zum mikrofilamentösen Zellgewebe transportiert werden. Die Identität dieser Granula mit dem großen Speicherkompartiment liegt nahe (179,180).

Ende 1975 stellten Yoshikuni-Fujita und Mitarbeiter die Zweikompartiment-Theorie in Frage, ohne jedoch die Argumente von Grodsky und Malaisse widerlegen zu können. Die Autoren sind der Meinung, daß Synthese, Speicherung und Freisetzung von Insulin einen einfachen kontinuierlichen Prozeß darstellen, der durch seine eigene unmittelbar zuvor bestehende Aktivität gesteuert wird (75).

2. 2. Sekretionshemmende und sekretionsfördernde Wirkstoffe

Die Insulinsekretion läßt sich durch eine Vielzahl von Wirkstoffen beeinflussen. Grundsätzlich kann zwischen sekretionshemmenden und sekretionsfördernden Substanzen unterschieden werden.

Die Hemmstoffe der Hormonsekretion entfalten ihre Wirkung in Gegenwart von Glukosekonzentrationen, die normalerweise die Insulinsekretion stimulieren. Im Gegensatz zu zytotoxisch wirkenden Verbindungen wie Streptozotolin und Alloxan (63, 64, 73, 229), bleibt die B-Zelle unter dem hemmenden Einfluß dieser Substanzen intakt.

Alle Versuche, sekretionsfördernde Substanzen aufgrund ihrer Wirkungseigenschaften in Gruppen mit unterschiedlichem Einfluß auf die Insulinsekretion zu unterteilen, sind bislang noch lückenhaft.

Von Candela wurde vorgeschlagen, zwischen sekretionsfördernden Substanzen mit stimulierenden und solchen mit potenzierenden Eigenschaften zu unterscheiden (40). Der sekretionsfördernde Effekt der potenzierenden Wirkstoffe ist an die Anwesenheit von Glukose in Konzentrationen von > 3 mMol gebunden. Hierbei wird dem Monosaccharid ein sogenannter permissiver Effekt auf die Insulinfreisetzung zugeschrieben.

Wirkstoffe mit stimulierenden Eigenschaften entfalten ihre sekretionsfördernde Wirkung entweder in vollkommener Abwesenheit von Glukose oder bei Glukosekonzentrationen bis zu 3 mMol (40) - einem Wert, unterhalb dessen Glukose selbst keine stimulierende Wirkung auf die Insulinsekretion entfaltet (88, 165). Ob der starre Grenzwert von 3 mMol für die Abgrenzung potenzierender Wirkstoffe gerechtfertigt ist, muß in Frage gestellt werden, zumal Perfusionsversuche am isolierten Rattenpankreas gezeigt haben,

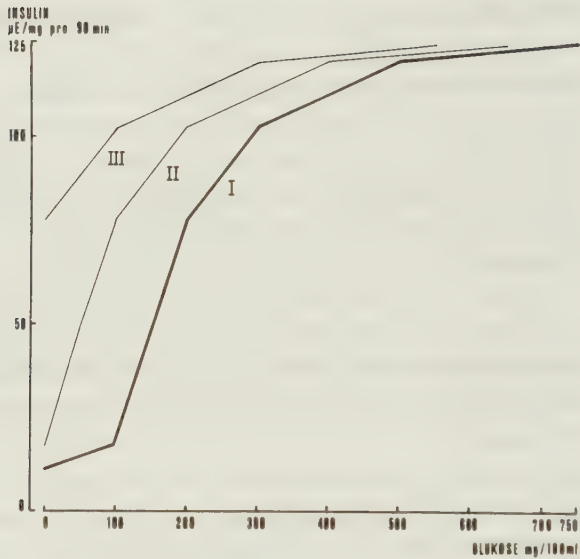


Abb. 4

Einfluß glukosesimulierender Substanzen auf die glukosestimulierte Insulinsekretion (nach Malaisse - 177)

Kurve I: Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen stimulierender Glukosekonzentration und Insulinsekretion

Kurve II: Insulinsekretion bei zusätzlichem Einfluß von schwach wirkenden glukosesimulierenden Substanzen

Kurve III: Insulinsekretion bei zusätzlichem Einfluß von stark wirkenden glukosesimulierenden Substanzen

daß erst bei Glukosekonzentrationen von mehr als 4,4 mMol mit einer Wirkung des Monosaccharids auf die Insulinsekretion zu rechnen ist (97,165,166).

Malaisse machte 1973 den Vorschlag, alle Substanzen mit förderndem Einfluß auf die Insulinsekretion in glukosesimulierende und glukosepotenzierende Wirkstoffe einzuteilen. Bei dieser Differenzierung wird davon ausgegangen, daß glukosesimulierende Substanzen den gleichen Netto-Effekt auf die Insulinsekretion haben wie die in einem begrenzten Stimulationsbereich um einen bestimmten Betrag erhöhten Glukosekonzentrationen. Demgegenüber ist der sekretionsfördernde Einfluß glukosepotenzierender Substanzen durch die Eigenschaft charakterisiert, daß der stimulierende Effekt der Glukose um einen konstanten Faktor multipliziert wird (177).

Glukosesimulierende Substanzen entfalten ihre stärkste Wirkung in Abwesenheit von Glukose oder bei niedrigen bis mittleren Glukosekonzentrationen. In Gegenwart höherer Glukosekonzentrationen läßt ihre Wirkung zusehends nach (177 - Abb. 4). Dagegen ist der Effekt glukosepotenzierender Substanzen umso stärker, je höher die Glukosekonzentration im Medium ist. In Abwesenheit von Glukose ist er nicht nachweisbar (177 - Abb. 5). Typische Vertreter mit glukosesimulierendem Einfluß auf die Hormonsekretion sind Glukose selbst, aber auch Leucin und Mannose, typische Vertreter mit glukosepotenzierendem Einfluß sind die Methylxanthine Coffein und Theophyllin, zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) und Dibutyryl-cAMP (177).

2.2.1. Wirkstoffe mit hemmendem Einfluß auf die Insulinsekretion

Biogene Amine

In vitro und in vivo wird die glukoseinduzierte Insulinfreisetzung

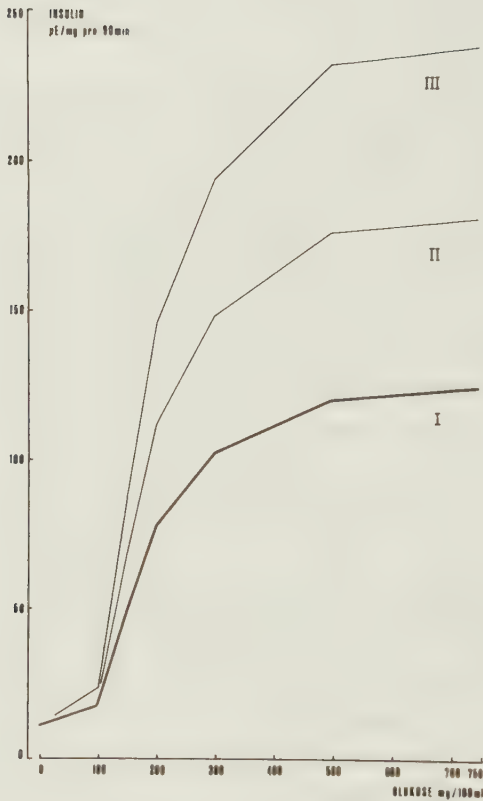


Abb. 5

Einfluß glukosepotenzierender Substanzen auf die glukosestimulierte Insulinsekretion (nach Malaisse - 177)

Kurve I: Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen stimulierender Glukosekonzentration und Insulinsekretion

Kurve II: Insulinsekretion bei zusätzlichem Einfluß von schwach wirkenden glukosepotenzierenden Substanzen

Kurve III: Insulinsekretion bei zusätzlichem Einfluß von stark wirkenden glukosepotenzierenden Substanzen

durch die biogenen Amine Adrenalin, Noradrenalin und Serotonin gehemmt (53,173,184,202,203,218,249,254). Da Adrenalin die cAMP-Konzentration isolierter Inseln senkt (202, 203,246), hemmt es auch die in Gegenwart von Coffein (202) und Theophyllin (247) hervorgerufene Insulinsekretion (vgl. Kap. 2.3.2.).

Adrenalin und Noradrenalin entfalten ihre hemmende Wirkung auf die Insulinsekretion über eine Erregung der adrenergen Alpha-Rezeptoren der B-Zelle (246). Hierfür spricht die in vivo und in vitro beobachtete Aufhebung des Hemmeffektes durch Blockade der Alpha-Rezeptoren mit Phentolamin und Phenoxybenzamin (168,173,246). Zudem bleibt unter dieser Versuchsbedingung der durch Adrenalin ausgelöste Abfall der cAMP-Konzentration aus (246).

Hemmstoffe des Kohlenhydratabbaus

Die glukoseinduzierte Insulinsekretion wird durch Mannoheptulose, einen Hemmstoff der Hexokinase und der Glukokinase, nahezu vollständig blockiert (53,145,162,169,170,171,201). Darüberhinaus soll durch diese Substanz auch die Synthese des B-Zellen-Hormons gehemmt werden (71). Im Inkubationsversuch hemmt Mannoheptulose die in Anwesenheit von Glukose durch Coffein (151) bzw. Theophyllin (169) potenzierte Insulinsekretion.

D-2-Desoxyglukose, ein Hemmstoff der Glukose-6-phosphat-Isomerase, hemmt sowohl die glukoseinduzierte (78,169,201) als auch die in glukosehaltigem Medium durch Theophyllin (169) bzw. Coffein (151) hervorgerufene Insulinsekretion (151,162, 170). Der Wirkstoff blockiert den Glukoseabbau nach vorausgehender Phosphorylierung durch Hexokinase.

Ähnliche sekretionshemmende Effekte konnten in Kulturen von fötalem Rattenpankreas beobachtet werden, wenn die Glykolyse durch Jodacetat blockiert wurde (152).

Inkubationsversuche mit isolierten Ratteninseln haben gezeigt, daß die in Anwesenheit von Glukose durch Aminophyllin provozierte Insulinsekretion durch Vorbehandlung mit 6-Aminonikotinamid gehemmt werden konnte. Die Substanz, ein Hemmstoff der NADP-Synthese, blockiert den Glukoseabbau im Pentosephosphatshunt (2).

Hormone

Die von zahlreichen Autoren nachgewiesene hemmende Wirkung endogenen oder exogen zugeführten Insulins auf die sekretorische Aktivität der B-Zellen wurde bereits erwähnt (5,10,111,129,162,222,234 - vgl. Kap. 2.1.2.1.).

Auch Thyroxin scheint einen hemmenden Einfluß auf die Insulinsekretion zu haben. Eine über 5 Tage an lebende Ratten verabreichte Thyroxin-Dosis führte bei anschließender Perfusion der isolierten Bauchspeicheldrüse zu einer Verminderung der glukoseinduzierten Insulinsekretion. Hierbei fiel auf, daß lediglich die späte Sekretionsphase betroffen war. Die tolbutamid-, die D-glycerinaldehyd- und die D-mannoseinduzierte Insulinsekretion konnte hingegen durch Thyroxin nicht beeinflusst werden (159).

Perfusionsversuche am isolierten Rattenpankreas haben ergeben, daß die glukoseinduzierte Insulinsekretion auch durch Somatostatin (Growth Hormone Release Inhibiting Factor = GHRIF) reduziert werden kann (67,209). Dies ist nicht der Fall bei Inkubationsversuchen mit kollagenaseisolierten Inselzellen, möglicherweise werden hier die Rezeptoren für hemmende Substanzen wie Somatostatin durch die Aufbereitung der Zellen zerstört (209).

Bei Inkubationsversuchen konnte die Insulinsekretion durch Somatostatin-Antiserum signifikant gesteigert werden (240).

Narkotika

Untersuchungen an lebenden Ratten haben ergeben, daß Natrium-Pentobarbital und Halothan eine signifikante Abnahme der Insulinsekretion bedingen. Dieser Effekt trat jedoch nur bei normal gefütterten Ratten, nicht aber bei Versuchstieren mit 48-stündiger Nahrungskarenz auf (12). Über den Wirkungsmechanismus dieser Substanzen sind bislang keine sicheren Aussagen möglich.

Diazoxid

Der antialuretische Wirkstoff Diazoxid hat in vivo einen hyperglykämischen Effekt, der mit einer Verminderung der glukoseinduzierten Insulinsekretion erklärt wird (14, 72, 112, 121, 162, 203, 232, 254). Auch die tolbutamidinduzierte Insulinfreisetzung wird durch Diazoxid unterbunden (160, 161, 186).

Es konnte gezeigt werden, daß sich die diazoxidinduzierte Hemmung der Insulinsekretion durch den Alpha-Blocker Phenoxybenzamin aufheben läßt (14). Hieraus ließe sich folgern, daß der Wirkstoff die Alpha-Rezeptoren der B-Zelle stimulieren kann.

Cyproheptadin

Versuche mit isolierten Inseln (134) und isoliert perfundierten Bauchspeicheldrüsen (135) weisen darauf hin, daß die Insulinsekretion durch das Antihistaminikum Cyproheptadin gehemmt wird. Dies gilt nicht nur für die glukose-, sondern auch für die tolbutamid- und die arginininduzierte Hormonsekretion (135).

Methylenblau

Durch Methylenblau läßt sich die Insulinsekretion isolierter Inseln des Rattenpankreas hemmen. Der NADPH/NADP-Quotient wird hierbei vermindert (3).

Heparin

In höheren Dosen zugesetztes Heparin vermag sowohl die basale als auch die glukoseinduzierte Insulinsekretion kollagenaseisolierter Inseln zu hemmen (69).

Magnesium

Versuche mit inkubierten Gewebestückchen des Rattenpankreas haben ergeben, daß die glukoseinduzierte Insulinsekretion durch Magnesiumkonzentrationen von 20 mÄq/l gehemmt werden kann (173).

Weitere Hemmstoffe

Weitere Substanzen, die eine Hemmung der Insulinsekretion bewirken, sind 2,4-Dinitrophenol (52,53,170), Phenazinmethosulfat (53), p-Phenylen-Diamin (53), Cyanid (170), Salizylat (53) und Ammoniumionen (68). Die genauen Wirkungsmechanismen dieser Substanzen sind noch unbekannt.

Ein anderer Wirkstoff, der die Insulinsekretion unter bestimmten Versuchsbedingungen vermindert (183), jedoch nicht zu den eigentlichen Inhibitoren der Hormonfreisetzung zählt, ist das Cytostatikum Vinkristin. Die Wirkung dieser Substanz beruht sehr wahrscheinlich auf einer Zerstörung bestimmter Zellstrukturen. Perfusionsversuche

hatten ergeben, daß die glukoseinduzierte Insulinsekretion nach einstündiger Einwirkung von Vinkristin nur gering, nach zweistündiger Einwirkung hingegen stark vermindert wurde. Als Ursache wurde der elektronenmikroskopisch nachgewiesene Schwund des mikrotubulären Systems diskutiert (60).

Demgegenüber zeigte sich bei der nur kurzfristigen Einwirkung von Vinkristin über 25 Minuten eine Steigerung der Insulinfreisetzung. Wahrscheinlich kann es innerhalb einer so kurzen Versuchsperiode bereits zu einer funktionell wirksamen Schädigung des mikrotubulären Systems kommen (60).

2.2.2. Wirkstoffe mit förderndem Einfluß auf die Insulinsekretion

Monosaccharide

Bedeutendster Vertreter der B-Zellen-stimulierenden Wirkstoffe ist Glukose (151,177), deren Wirksamkeit anhand zahlreicher in vivo- und in vitro-Experimente belegt werden konnte (38,52,53,76,88,92,94,97,99,106,112,145,191,203,236). Die Schwellenkonzentration, oberhalb derer mit einer Stimulation zu rechnen ist, wird je nach gewählter Versuchsanordnung unterschiedlich angegeben. Die mitgeteilten Werte liegen zwischen 50 mg/100 ml (88) und 110 mg/100 ml Glukose (99,102).

Zwischen beiden Anomeren der Glukose bestehen offensichtlich Unterschiede in der Wirksamkeit. So konnte am isoliert perfundierten Rattenpankreas gezeigt werden, daß Alpha-D-Glukose im Vergleich zu Beta-D-Glukose eine stärkere betacytotrope Wirkung entfaltet (106,191).

Die Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der stimulierenden Glukosekonzentration und der sekretorischen Antwort der B-Zelle ist durch einen S-förmigen Verlauf charakterisiert (99,101,165,177,185 - Abb. 4 und 5).

Daß auch Mannose und Fruktose eine insulinfreisetzende Wirkung haben, gilt als gesichert. Perfusionsversuche am isolierten Rattenpankreas ließen jedoch erkennen, daß das Ausmaß der induzierten Insulinsekretion im Vergleich zu Glukose geringer ist (88,159,236,237). Die B-Zellen-stimulierende Wirkung von Mannose konnte auch anhand von Inkubationsversuchen nachgewiesen werden (53,151,201), die der Fruktose hingegen nicht (53,145,201). Der Zeitpunkt des Wirkungseintritts ist bei den drei Monosacchariden Mannose, Fruktose und Glukose weitgehend identisch. Dies könnte darauf hindeuten, daß der Trigger-Mechanismus dieser drei Substanzen der gleiche ist (236).

Abgesehen von einer älteren tierexperimentellen Studie an Hunden (219) und einer Untersuchung an foetalen Rattenpankreaskulturen (151) konnte für Galaktose keine B-Zellen-stimulierende Wirkung ermittelt werden (52,87,88,145,162,201,236).

Demgegenüber sollen D-Ribose, D-Xylose und der 5-wertige Zuckeralkohol Xylit eine Insulinfreisetzung bewirken (71,112,162,219). Andere Versuchsergebnisse mit Pentosen stehen jedoch auch im Widerspruch zu diesen Befunden (53,87,88,175,201).

Aminosäuren

Perifusionsstudien mit Arginin und Leucin führten zu einer biphasischen Freisetzung des Inselzell-Hormons (36). Auch andere in vitro-Untersuchungen weisen auf die insulinsekretionssteigernde Wirkung der beiden Aminosäuren hin (4,112,135,172,175,198,199).

In Gegenwart von Coffein (10 mM) wurde die Insulinfreisetzung durch die Aminosäuren Leucin, Arginin, Threonin und Lysin in der Reihenfolge ihrer Aufzählung zunehmend gesteigert (150).

Am Versuchsmodell des isoliert perfundierten Rattenpankreas ließ sich durch L-Leucin eine zwar deutlich ausgeprägte, jedoch nur kurzfristige Insulinfreisetzung erzeugen (230).

Auch die Aminosäuren Glycin und L-Histidin riefen am in situ isolierten Pankreas einen in der Pankreasvene gemessenen Anstieg der Insulinkonzentration hervor (207).

Sulfonylharnstoffe

Perfusionsversuche mit Tolbutamid ergaben vor allem eine deutlich ausgeprägte und rasch einsetzende initiale Phase der Insulinsekretion. Die in der Folgezeit nur noch schwach ausgeprägte Hormonfreisetzung sistierte mit Absetzen des Wirkstoffes (55, 91, 97, 165, 186).

Ein ähnliches Sekretionsmuster ließ sich mit Glibornurid erzielen. Hierbei konnte sogar ein höherer Maximalwert als mit Tolbutamid erzielt werden (99).

Im Vergleich zu anderen Sulfonylharnstoffen zeichnet sich Glibenclamid durch seine über die Stimulationsperiode hinaus anhaltende Wirkung aus (95).

Versuche an isolierten Inseln (2) und inkubierten Gewebestückchen (52) sowie Perfusionen des isolierten Rattenpankreas (186) haben gezeigt, daß der Sulfonylharnstoff Tolbutamid die glukoseinduzierte Insulinsekretion zu potenzieren vermag. Die Auffassung, daß Sulfonylharnstoffe ihre sekretionsfördernde Wirkung auch in voller Abwesenheit von Glukose entfalten können, wird heute weitgehend akzeptiert. In Gegenwart von Glukose haben diese Wirkstoffe sehr wahrscheinlich einen synergistischen Einfluß auf die Insulinsekretion (68, 112, 163).

Hormone

Die hypophysären Hormone STH (57, 215, 221), ACTH (33, 57, 79, 157, 169, 237, 238) und TSH (169) führten in zahlreichen in vivo- und in vitro-Versuchen zu einer Steigerung der Insulinsekretion.

Dies gilt auch für das A-Zellen-Hormon Glukagon (14,19,33,36, 93,145,149,169,237,238). Hierbei scheint das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP) eine Vermittlerrolle zu spielen (169,177, 202,246). Im Perfusionsversuch am isolierten Rattenpankreas induzierte Glukagon bei vollkommener Abwesenheit von Glukose eine rasch einsetzende Insulinsekretion. Das Sekretionsmuster unterschied sich von dem unter Stimulation mit Glukose beobachteten insofern, als kein erster steiler Peak, sondern lediglich eine zumeist allmählich ansteigende, einphasige Insulinsekretion nachweisbar war. Erst die gleichzeitige Perfusion mit Glukose induzierte die bekannte zweiphasige Kinetik mit einem ausgesprochen starken Konzentrationsanstieg in der Sekundärphase (14,19,36,93).

Stimulationsversuche mit Pankreozymin führten zu einer Insulinfreisetzung, welche durch die Anwesenheit von Glukose weiter gesteigert werden konnte (77).

Mit Sekretin inkubierte Pankreasstückchen ergaben eine Insulinfreisetzung, wie sie mit einer stimulierenden Glukosekonzentration von 200 mg/100 ml erreicht wird (216).

In vivo-Versuchen mit Ratten ist zu entnehmen, daß die durch intravenöse Glukoseapplikation hervorgerufene Insulinsekretion in Gegenwart von IRP (Intestinal-Insulin-releasing-Polypeptide - 244,245) und GIP (Gastric-Inhibitory-Polypeptide - 239,245) erhöht wird. Auch beim Menschen konnte eine Steigerung der glukoseinduzierten Insulinsekretion nach Gabe von GIP beobachtet werden (65).

Methylxanthine

Methylxanthine sind sehr wahrscheinlich Hemmstoffe der cAMP-

Phosphodiesterase (9,14,177). Sie bewirken in der B-Zelle einen Anstieg der cAMP-Konzentration (202,203,246). Folge dieser Wirkung ist eine Zunahme der Insulinsekretion, die, abgesehen von wenigen Ausnahmen (37,93,149), an die Anwesenheit höherer Glukosekonzentrationen gebunden ist.

In vitro-Versuche mit isolierten Ratten-Inseln ergaben bei Zugabe von Theophyllin, Coffein oder Aminophyllin einen Anstieg der Insulinsekretion ins Inkubationsmedium (2,112,169,200,201,202,203,249). Der gleiche potenzierende Effekt wurde mit Kulturen foetaler Rattenbauchspeicheldrüsen erzielt (149,151,152). Auch Inkubationsversuche mit isolierten Inseln (8) und foetalem Pankreas vom Menschen (74) führten zu vergleichbaren Ergebnissen. Die Wirkung der Methylxanthine nimmt mit steigender Glukosekonzentration zu, auch wenn man diese in Konzentrationen zusetzt, die ihrerseits die Sekretion von Insulin noch nicht beeinflussen. Diese Beobachtung weist auf die Bedeutung des Monosaccharidstoffwechsels für die Insulinsekretion hin.

In Perifusionsversuchen induzierte Theophyllin bei Abwesenheit von Glukose eine rasche initiale Sekretionsphase, die späte Sekretionsphase war hingegen nur sehr gering ausgeprägt (37).

Perfusionsversuche in Abwesenheit von Glukose ließen unter dem Einfluß von Theophyllin keine (14) oder zumindest keine nennenswerten (190) B-Zellen-Wirkung erkennen. Die Zugabe von Glukose führte jedoch regelmäßig zum Auftreten einer sehr deutlich ausgeprägten, späten Sekretionsphase (14,38,190).

Einen wesentlich stärker potenzierenden Einfluß auf die glukoseinduzierte Insulinsekretion hat 3-Isobutyl-1-methylxanthin (85, 185,202,203). Dies konnte anhand von Inkubationsstudien mit isolierten Ratteninseln nachgewiesen werden.

Metaboliten des Kohlenhydratabbaus

Aus einigen Untersuchungen geht hervor, daß die Insulinsekretion auch durch Metaboliten des Kohlenhydratabbaus beeinflusst wird.

Die Wirkung von Pyruvat wurde am foetalen Rattenpankreas untersucht. Hierbei zeigte sich, daß die Substanz per se eine nur geringe Steigerung der Insulinsekretion hervorrief. Demgegenüber kam es zusammen mit Coffein zu einer potenzierten Insulinsekretion (151). Glutamat, Pyruvat und Fumarat bewirkten eine ausgeprägte Steigerung der durch hohe Glukosekonzentrationen induzierten Insulinsekretion. Die basale Insulinsekretion blieb jedoch bei Anwesenheit von Glukose in Konzentrationen von 60 mg/100 ml unbeeinflusst (52,53).

Daß Citrat eine stimulierende Wirkung auf die Insulinsekretion hat, ging aus Inkubationsversuchen mit Pankreasgewebe von Ratten hervor (223). Hierbei wurde entweder ohne Glukose im Medium gearbeitet (223), oder es wurde die Glukosewirkung durch 2-Desoxyglukose unterdrückt (78). In Kulturen von foetalem Rattenpankreas förderte Citrat in Gegenwart von Coffein die Insulinsekretion (150).

Parasympathikomimetika

Acetylcholin zeigt am isoliert perfundierten Rattenpankreas bei Abwesenheit von Glukose keine Wirkung auf die Insulinsekretion. Demgegenüber kommt es bei Glukosekonzentrationen von 80 bzw. 150 mg/100 ml unter der Einwirkung von Acetylcholin zu einer spontanen, rasch ansteigenden Insulinfreisetzung. Eserin verstärkt diese Wirkung, Atropin hebt sie auf (130,166).

Inkubationsversuche haben ergeben, daß Acetylcholin die glukosestimulierte Insulinsekretion bis zu 50 % zu steigern vermag (68,249). Perfusionsversuche mit Muskarin ergaben die gleiche Wirkung (166).

Prostaglandine

Die durch hohe Glukosekonzentrationen (300 mg/100 ml) und durch Theophyllin erzielte Insulinsekretion konnte durch Zusatz der Prostaglandine PGE_1 , PGE_2 und PGF_{2a} deutlich verstärkt werden (133).

Die Hemmung der Insulinsekretion durch Noradrenalin ließ sich mit den Prostaglandinen PGE_1 und PGE_2 teilweise aufheben (133).

In Gegenwart von Glukose in der Konzentration von 200 mg/100 ml konnte jedoch keine Wirkung des PGE_1 festgestellt werden (175).

Chelat-Bildner

Der Chelat-Bildner Äthylendiamintetraacetat (EDTA) führte am teildrainierten Hundepankreas zu einer deutlich nachweisbaren Insulinsekretion (207). Denselben Effekt besitzen die chelatbildenden Aminosäuren L-Histidin, L-Leucin und Glycin (207). Maske vertrat die Auffassung, daß Insulin in den B-Zellen an Zink gebunden als Komplex vorliegt. Demnach wäre es vorstellbar, daß die Chelat-Bildner diese Komplexe durch kompetitive Bindung des Metalles auflösen und die Freigabe von Insulin einleiten (188,189).

Elektrolyte

Die insulinstimulierende Wirkung von Kalium ist konzentrationsabhängig. Am isoliert perfundierten Rattenpankreas führte eine Erhöhung der Kaliumkonzentration von physiologischen Werten (4 mÄq/l) auf 8mÄq/l trotz vollständiger Abwesenheit von Glukose zur Insulinfreisetzung (90). Weniger hohe Konzentrationen steigern die Empfindlichkeit der Inselzellen auf verschiedene Se-

kretionsreize. Kaliumkonzentrationen unter $3 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ hemmen die Insulinsekretion zumindest im in vitro-Experiment (123). Im Zusammenhang mit der kaliuminduzierten Insulinsekretion ist bemerkenswert, daß die glukoseinduzierte Insulinsekretion von einer erhöhten Kaliumaufnahme in die Inselzellen begleitet wird. Dies ist nicht der Fall bei einer tolbutamidinduzierten Insulinfreisetzung (123).

Calciumionen sind per se nicht geeignet, eine Insulinsekretion zu provozieren, dennoch ist die Anwesenheit von Calcium Voraussetzung für eine normal ablaufende Insulinsekretion als Antwort auf einen Glukose- oder auf einen Tolbutamidreiz (198). Setzt man dem Perfusat Calciumionen in steigender Konzentration bis zu $4 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ zu, so steigt die durch einen kurz andauernden Glukosestimulus bzw. durch eine kontinuierliche Glukosestimulation hervorgerufene Insulinsekretion proportional an. Wenn die Konzentration von $4 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ überschritten wird, ist keine weitere Steigerung der Hormonfreisetzung durch Calcium möglich (55, 90, 101). Den Resultaten der Perfusionsversuche ist zu entnehmen, daß sich der Einfluß der Calciumionen auf beide Sekretionsphasen bezieht (55).

B-Zellenstimulationen mit Tolbutamid haben gezeigt, daß die Insulinsekretion durch Zusatz von Calcium in einem Konzentrationsbereich zwischen $0,59$ und $10,9 \text{ m}\ddot{\text{A}}\text{q/l}$ proportional gesteigert werden kann (54).

Anhand von Inkubationsversuchen ließ sich die Abhängigkeit der Insulinsekretion von der Calciumkonzentration auch unter dem Sekretionsreiz von Coffein, Arginin und Xylit nachweisen (112).

Energiereiche Phosphate

In vivo-Untersuchungen an der Maus (33) und am Hundebastard (50) ergaben nach intravenöser bzw. intraarterieller Verabrei-

chung von cAMP einen Anstieg der Seruminsulinkonzentration. Dementsprechend konnte die Insulinsekretion am isoliert perfundierten Rattenpankreas durch cAMP gesteigert werden (14, 237, 238).

Ähnliche Ergebnisse wurden durch Zusatz von Dibutyryl-cAMP zu Pankreasstückchen menschlicher Foeten (200), zu Pankreasstückchen des Goldhamsters (68), zu foetalen Pankreaskulturen der Ratte (152) und zu isolierten Inseln der Ratte (112) erzielt. Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß Dibutyryl-cAMP seine Wirkung nur in Gegenwart von Glukose entfalten kann. ATP führte bei lebenden Ratten zu einer Steigerung der Insulinabgabe (224).

Glycerinaldehyd

Die in Perfusionsversuchen nachgewiesene stimulierende Wirkung des Glycerinaldehyds ist mit der von Glukose vergleichbar (159, 181).

2.3. Arbeitshypothesen zum Ablauf der Insulinsekretion

Im Folgenden soll versucht werden, die Arbeitshypothesen zum Ablauf der Insulinsekretion darzustellen. Da zahlreiche Details noch unbekannt sind und viele Beobachtungen zum Teil sehr unterschiedliche Interpretationsmöglichkeiten zulassen, muß eine solche Darstellung lückenhaft bleiben.

2.3.1. Glukose

Cerasi (44) und Pagliara (214) diskutierten die Möglichkeit, daß Glukose auf zweifache Weise in den Mechanismus der Insulinsekretion eingreift, einerseits als Substrat, das in den Glukosestoffwechsel der B-Zelle aufgenommen wird, andererseits als Vermittlersubstanz im Sinne eines "first messenger" am Rezeptor.

2.3.1.1. Glukosemetabolismus

Es wird heute angenommen, daß Glukose in die B-Zelle transportiert und intrazellulär metabolisiert wird (5,78,88,162,177). Hierfür spricht der Nachweis, daß die glukoseinduzierte Insulinfreisetzung durch Substanzen gehemmt werden kann, die den Glukosemetabolismus in der B-Zelle blockieren. Dies gelingt beispielsweise mit D-2-Desoxyglukose, einem Hemmstoff der Glukose-6-phosphat-Isomerase (162,170), und mit Mannoheptulose, einem Hemmstoff der Hexo- und der Glukokinase (53,162,170,171). Die tolbutamidinduzierte Insulinsekretion wird hingegen durch D-2Desoxyglukose (71) und durch Mannoheptulose nicht beeinträchtigt (53). Diese Beobachtung legt den Verdacht nahe, daß die genannten Hemmstoffe der Insulinsekretion ihre Wirkung

in erster Linie über eine Blockierung des Glukosemetabolismus, viel weniger dagegen über andere Mechanismen entfalten.

2.3.1.1.1. Energiebereitstellung

Die Insulinfreisetzung ist sehr wahrscheinlich energieabhängig (87,170). Deshalb wird vor allem der Bereitstellung von ATP eine gewisse Bedeutung beigemessen (53,177). Candela konnte zeigen, daß ATP in vivo die Insulinsekretion zu steigern vermag (224). Coore und Randle (53) sowie Malaisse und Mitarbeiter (170) wiesen darauf hin, daß der stimulierende Effekt von Glukose und Mannose möglicherweise in einer festen Beziehung zu deren Phosphorylierung und weiteren Metabolisierung steht.

Die Energiebereitstellung in Form von ATP scheint vor allem für die zweite Phase der Insulinsekretion von Bedeutung zu sein. Die erste Phase hingegen kann vermutlich mit zelleigener Energie bewältigt werden. Zu dieser Annahme führten Versuche mit perfundiertem Pankreasgewebe der Ratte. Hierbei löste die B-Zellen-wirksame Substanz Theophyllin in Abwesenheit von Glukose lediglich die initiale Sekretionsphase, jedoch keine eindeutige zweite Sekretionsphase aus (37). Ein zweiter Sekretionsgipfel erschien erst bei Zugabe von Glukose zum Medium (14, 38,190). Die zweite Sekretionsphase ist auch dann nachweisbar, wenn anstelle von Glukose Citrat oder Pyruvat zugesetzt wird (37,38).

2.3.1.1.2. Pentosephosphatshunt

Über den Stoffwechselweg, der für die Insulinsekretion letztlich der maßgebende ist, besteht noch keine Einigkeit. Verschiedene

Studien weisen darauf hin, daß möglicherweise der Pentosephosphatshunt eine Rolle spielt (2,5,6,10,152,201). So konnte an inkubierten Inseln gezeigt werden, daß die durch exogenes Insulin provozierte Hemmung der glukosestimulierten Insulinsekretion mit einer Verminderung des NADPH/NADP-Quotienten einhergeht, das Verhältnis von NADH/NAD hierbei aber nicht beeinflußt wird (5). Auch der Redoxindikator Methylenblau führte zu einer Verminderung des NADPH/NADP-Quotienten. Gleichzeitig damit kam es zu einer Hemmung der Insulinsekretion (3). Der Zusatz von Leucin bewirkte hingegen eine Zunahme des NADPH/NADP-Quotienten sowie eine Steigerung der glukose-induzierten Insulinsekretion (4).

Zudem ließ sich nachweisen, daß exogenes Insulin die Oxydation von 1-¹⁴C-Glukose vermindert, nicht aber die von 6-¹⁴C-Glukose (5). Diese Ergebnisse könnten darauf hindeuten, daß der Glukosestoffwechsel über die Glykolyse und den Krebs-Zyklus durch exogenes Insulin nicht beeinträchtigt wird, zumal bei diesen Untersuchungen der NADH/NAD-Quotient nicht verändert wurde (5). Dagegen lassen diese Befunde die Annahme zu, daß der Pentosephosphatshunt im Rahmen der glukosestimulierten Insulinsekretion eine Rolle spielt.

Gagliardino und Martin, die bei ihren Versuchen mit Pankreasgewebestückchen trotz Präinkubation mit 2-Desoxyglukose durch Citratzusatz eine Insulinsekretion auslösen konnten, vertreten demgegenüber die Auffassung, daß die Metabolisierung der Glukose in der B-Zelle über den Krebs-Zyklus verläuft (78).

2.3.1.2. Rezeptorhypothese

Da gezeigt werden konnte, daß auch die in den Inselzellen nicht metabolisierbaren Zucker Galaktose und Glukosamin am perfundierten Rattenpankreas zusammen mit Theophyllin einen deutlichen

ersten und zweiten Peak der Insulinsekretion induzieren, war die Annahme gerechtfertigt, daß die Bereitstellung von Energie oder anderen Kofaktoren aus dem Glukosemetabolismus nicht die eigentliche Aufgabe der Glukose sein konnte (153). Nicht zuletzt deshalb wurde gefordert, daß die B-Zelle einen Rezeptor mit breitem Spektrum gegenüber Zuckermolekülen aufweist, über den die Insulinsekretion stimuliert werden kann (106,153,190,191,214).

Untersuchungen unter Verwendung der beiden anomeren Formen der D-Glukose stützen die hypothetische Annahme eines Glukoserezeptors. Es hatte sich gezeigt, daß die Insulinsekretion vorwiegend von dem Alpha-Anomeren der Glukose stimuliert wird (103,106,125,191,205,206). Dagegen wird das Beta-Anomere der Glukose, das die geringere insulinotrope Wirkung besitzt, bevorzugt in den Inselzellen metabolisiert (125).

Auch Messungen des Membranpotentials der B-Zelle unter dem Einfluß verschiedener Substanzen wie Glukose, Mannose und Alloxan (58,192,212) weisen auf die Existenz eines Glukoserezeptors hin (192,212).

2.3.2. Zyklisches AMP

Anhand von in vitro-Versuchen konnte gezeigt werden, daß die Insulinsekretion durch cAMP gesteigert werden kann (14,237,238). Die Tatsache, daß eine Reihe von Wirkstoffen mit insulinotroper Wirkung einen positiven Effekt auf den cAMP-Spiegel der B-Zelle besitzen, weist auf die Bedeutung hin, die dieser Substanz bei der Vermittlung der Insulinsekretion zukommt (44,46,85,202,203,246). Maldonato und Mitarbeiter nahmen an, daß die intrazelluläre cAMP-Konzentration lediglich die Insulinsekretion, nicht jedoch die Synthese des Hormons reguliert (185).

2.3.2.1. Glukose und zyklisches AMP

Untersuchungen von Charles und Mitarbeitern an perifundierten Pankreasinseln der Ratte (46) sowie Inkubationsversuche von Cerasi und Grill (44,85) legen es nahe, daß Glukose dosisabhängig eine Anreicherung von zyklischem AMP (cAMP) in der B-Zelle bewirkt. Die Stimulation des cAMP scheint der Insulinfreisetzung unmittelbar vorauszugehen (44,85). Über vergleichbare Ergebnisse berichteten Zawulich (256) und Maldonato (185).

Der wohl dominierenden Auffassung, daß Glukose die Konzentration von cAMP in der Inselzelle erhöht, stehen Untersuchungen von Montague und Cook gegenüber, nach denen selbst unter dem Einfluß hoher Glukosekonzentrationen keine Steigerung des intrazellulären cAMP-Gehaltes nachweisbar sein soll (202,203).

2.3.2.2. Methylxanthine und zyklisches AMP

Es wird heute angenommen, daß Methylxanthine die Insulinsekretion über eine Konzentrationserhöhung von cAMP durch Hemmung der cAMP-Phosphodiesterase stimulieren (9,31,169,226). Versuche mit isolierten Inseln des Rattenpankreas haben gezeigt, daß sowohl Coffein als auch Theophyllin einen cAMP-Anstieg in der B-Zelle bewirken (202,203,246).

Andere Versuche mit inkubierten Inseln ergaben, daß die Aktivität der Phosphodiesterase durch Theophyllin um 50 bzw. 93 % reduziert werden kann (11,31,226).

Die Abhängigkeit des insulinotropen Effektes der Methylxanthine von der Glukosekonzentration im Versuchsmedium könnte möglicherweise dadurch erklärt werden, daß die Methylxanthine über die Hemmung der Phosphodiesterase erst dann zu einem wesent-

lichen Anstieg des cAMP führen, wenn das Nukleotid durch die Wirkung der Glukose vermehrt bereitgestellt wird.

2.3.2.3. Hormone und zyklisches AMP

Verschiedene Hormone, wie z. B. Glukagon entfalten ihre B-Zellen-stimulierende Wirkung möglicherweise durch Aktivierung der Adenylzyklase. Auch unter dieser Voraussetzung wird ein Anstieg der intrazellulären cAMP-Konzentration induziert (14,149,177,246). Daß der Effekt dieser Hormone durch Methylxanthine weiter verstärkt wird (149), stimmt mit der Arbeitshypothese überein, daß die Hormone die cAMP-Produktion fördern und die Methylxanthine den Abbau hemmen (9).

Adrenalin, das zu den Hemmstoffen der glukoseinduzierten Insulinsekretion zählt (184,202,203,254), scheint seine Wirkung ebenfalls durch Angriff am cAMP-System zu entfalten. Das Katecholamin hat auf den intrazellulären cAMP-Spiegel einen negativen Effekt (202, 203,246), der nach Ansicht von Malaisse durch eine Hemmung der Adenylzyklase hervorgerufen wird (177).

2.3.3. Calcium-Ionen

2.3.3.1. Intrazelluläre Anreicherung von Calcium-Ionen

Eine zentrale Rolle bei der Insulinsekretion scheint das intrazelluläre ionisierte Calcium zu spielen. Malaisse konnte anhand seiner Versuche mit radioaktiv markiertem ⁴⁵Ca zeigen, daß Glukose sehr wahrscheinlich eine intrazelluläre Anhäufung von Calcium bewirkt, indem es die Abgabe von intrazellulärem Calcium hemmt bzw. dessen Aufnahme fördert (35,178,184). Dies würde auch mit der Beobach-

tung übereinstimmen, daß eine positive Korrelation zwischen der Insulinsekretionsrate und dem in der B-Zelle angehäuften ^{45}Ca besteht (184). Darüber hinaus wurde eine positive Korrelation zwischen Insulinsekretion und Calciumaufnahme festgestellt, wenn die B-Zellen durch andere Substanzen, wie z. B. Mannose und Leucin stimuliert wurden (182).

Diese Befunde stehen im Einklang mit Inkubations- und Perifusionsversuchen, aus denen hervorgeht, daß die stimulierende Wirkung der Glukose von der Calciumkonzentration im Medium abhängig ist (54,90,112,176). Möglicherweise handelt es sich bei der glukoseinduzierten Calciumanreicherung (176,182) in der B-Zelle um einen aktiven, energieverbrauchenden Prozeß, der einen intakten Glukosemetabolismus in der B-Zelle voraussetzt (184).

2.3.3.2. Intrazelluläre Verschiebungen von Calcium-Ionen

Wirkstoffe, wie z. B. Dibutyryl-cAMP (68,152,200) und Theophyllin (14,190) steigern die glukoseinduzierte Insulinsekretion. Daß diese Wirkstoffe jedoch keine intrazelluläre Calciumanreicherung hervorrufen, geht aus Untersuchungen mit radioaktiv markiertem ^{45}Ca hervor (34). Dies steht scheinbar im Widerspruch zu der Annahme, daß die Insulinsekretion über die intrazelluläre Calciumkonzentration reguliert wird (177). Malaisse ist jedoch der Auffassung, daß die aktuelle Konzentration der freien intrazellulären Calcium-Ionen nicht allein durch die Calciumaufnahme und die Calciumabgabe gesteuert wird, sondern auch durch die intrazelluläre Translokation des Calciums aus einem in Organellen gebundenen Pool, z. B. aus dem vakuolären System in das Cytosol (34,35). Als auslösender Mechanismus für diese Translokation wird ein Anstieg des cAMP-Spiegels

diskutiert, der einerseits durch Aktivierung der Adenylzyklase, andererseits durch Hemmung der Phosphodiesterase verursacht sein kann (177).

2.3.3.3. Zusammenspiel von intrazellulärer Anreicherung und intrazellulärer Verschiebung der Calcium-Ionen

Die Tatsache, daß Theophyllin in Abwesenheit von Glukose keine nennenswerte Insulinsekretion auslöst (14,37,190), wird mit der Arbeitshypothese erklärt, daß das unter dem Einfluß von Theophyllin in das Cytosol verlagerte Calcium in Abwesenheit von Glukose aus der B-Zelle abwandert (34,35,177). Somit kann das Calcium seiner Vermittlerrolle bei der Insulinsekretion nicht mehr gerecht werden. Der glukosepotenzierende Effekt des Theophyllin kann nach dieser Arbeitshypothese also erst dann wirksam werden, wenn durch Glukose ein Abwandern des Calciums durch die Zellmembran verhindert wird (35).

In Abwesenheit von extrazellulärem Calcium sind Glukose und Leucin nicht in der Lage, eine insulintrope Wirkung zu entfalten. Werden dem Medium jedoch Dibutyryl-cAMP oder Theophyllin anstelle von Calcium zugesetzt, so können Glukose und Leucin ihre sekretorische Wirkung wieder entfalten (34). Dibutyryl-cAMP und Theophyllin haben hierbei die Aufgabe, die intrazelluläre Verlagerung von Calcium in das Cytosol zu induzieren, während Glukose bzw. Leucin verhindern, daß das freigegebene Calcium aus der Zelle abwandert (177).

Methylxanthine besitzen als glukosepotenzierende Substanzen also die gemeinsame Eigenschaft, den cAMP-Spiegel innerhalb der B-Zelle anzuheben (202,203,246). Hierdurch wird eine intrazelluläre Verschiebung von Calcium aus dem vakuolären System in das Cytosol bewirkt. Dieser Vorgang hat jedoch nur dann einen

anhaltenden Anstieg der Insulinsekretion zur Folge, wenn zugleich Glukose oder eine glukosesimulierende Substanz wie Leucin anwesend ist, die ihrerseits verhindert, daß das anfänglich in das Cytosol verlagerte Calcium aus der Zelle abwandert (177).

2.3.4. Glykogen

Einigen Untersuchungen zufolge soll in den B-Zellen Glykogen enthalten sein. So wäre es vorstellbar, daß ACTH und Glukagon über eine Aktivierung der Adenylzyklase mit nachfolgender Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels eine Aktivierung der Phosphorylasekinase bewirken. Folge eines solchen Mechanismus wäre der Abbau des Glykogens (124). Die hieraus resultierende Änderung der Glukosekonzentration in den B-Zellen würde nach dieser Vorstellung letzten Endes die Freisetzung von Insulin bewirken (71). Gestützt wird diese Annahme durch die in Inselzellen von Diabetikern erhöht gefundenen Glykogenkonzentrationen (71). Es könnte also möglich sein, daß dieses Glykogen in den diabetischen Inselzellen nicht mehr abgebaut werden kann, wodurch es zur Einschränkung der Insulinproduktion kommt.

2.3.5. Morphologische Aspekte

Elektronenoptischen Untersuchungen ist es zu verdanken, daß der morphologische Ablauf der Insulinsekretion weitgehend geklärt werden konnte. Es gilt heute als gesichert, daß die in den B-Zellen enthaltenen Granula, die im endoplasmatischen Retikulum gebildet werden, ein Maß für die Insulinspeicherung darstellen.

Als erste sichtbare Vorstufe der Insulinsynthese sammelt sich zwischen den lamellären Strukturen des endoplasmatischen Retikulums eine amorphe Substanz an, bei der es sich sehr wahrscheinlich um Proinsulin handelt. Es formieren sich dann allmählich Ergastoplasmabläschen, die dieses Substrat enthalten. Die Umwandlung des Proinsulins zum Insulin vollzieht sich wahrscheinlich im Golgi-Komplex. Die fertigen B-Zellen-Granula, die das von einer feinen Membran umgebene wirksame Insulin darstellen, wandern auf einen entsprechenden Sekretionsreiz hin zur Zellperipherie (141, 142, 146, 163).

Wahrscheinlich werden die Granula über ein Zellskelett, das aus kontraktilen Mikrotubuli besteht, zur Zelloberfläche geleitet (147). Elektronenoptische Darstellungen zeigen die Mikrotubuli einerseits in enger Nachbarschaft mit den Sekretionsgranula, andererseits enden sie zum Teil im mikrofilamentösen Zellgewebe, das aus einem Netz von Mikrofilamenten in unterschiedlicher Anordnung besteht und direkt unter der Zellmembran lokalisiert ist. Somit könnte dieses Strukturgefüge den Zugang der Granula zu dieser Membran und damit auch den Vorgang der Emiozytose kontrollieren (144, 180, 183, 211). Malaisse nimmt an, daß ionisiertes Calcium die Insulinsekretion durch Aktivierung des kontraktilen mikrotubulär-mikrofilamentösen Systems steuert. Morphologisches Substrat dieses Vorganges könnte dann eine Verschiebung und Abgabe der Sekretionsgranula sein (34, 146, 174). Das mikrotubulär-mikrofilamentöse System nimmt wahrscheinlich nicht nur an der späten, sondern auch an der frühen Phase der Insulinsekretion teil (179, 180). Dies wurde aus ultrastrukturellen Untersuchungen des Rattenpankreas nach Behandlung mit Vinkristin und Deuteriumoxid geschlossen (60, 180).

Das Endstadium der Emiozytose zeigt sich morphologisch als

Verschmelzung der Granulamembran mit der Zellmembran. Durch Einreißen des Membrangefüges wird der Inhalt der Sekretgranula in den Extrazellulärraum entleert. Die entstehenden Lücken sind elektronenoptisch darstellbar (144, 147, 163).

Der Ablauf des Sekretionsvorganges scheint von der Art des Stimulus unabhängig zu sein. Es ist also gleichgültig, ob der Prozeß durch Glukose, Leucin oder Tolbutamid ausgelöst wird (71, 141, 163).

Eine weitere Form der Insulinfreisetzung ist die transmembranöse Sekretion von löslichem Insulin. Inwieweit dieser Mechanismus der Hormonabgabe quantitativ von Bedeutung ist, muß vorerst noch offen bleiben (162).

2.4. Tierexperimentelle Versuchsmodelle zum Nachweis der Insulinsekretion

- Die für tierexperimentelle Versuche zur Verfügung stehenden Modelle zum Studium der Insulinsekretion haben den Vorteil, die Hormonfreisetzung ohne den gleichzeitigen Einfluß zahlreicher in vivo wirksamer Faktoren zu untersuchen. Bewährt haben sich Perfusionen isolierter Bauchspeicheldrüsen sowie Inkubations- und Perifusionsversuche mit isolierten Inseln und Organpartikeln.

2.4.1. Inkubation isolierter Inselzellen und präparierter Pankreaspartikel

Die Inselzellen werden bei Anwendung dieser Technik mit Kollagenase isoliert und in einem Medium, das die Testsubstanz enthält, inkubiert (143,145). Gemessen wird die an das Inkubationsmedium abgegebene Insulinmenge. Neueren Untersuchungen zufolge muß möglicherweise damit gerechnet werden, daß durch die Kollagenasebehandlung Rezeptoren für hemmende Substanzen, wie Somatostatin, zerstört werden (209). Anstelle von isolierten Inselzellen können auch kleine Gewebestückchen der Bauchspeicheldrüse inkubiert werden (53,78,170).

2.4.2. Perifusion isolierter Inselzellen und präparierter Pankreaspartikel

Das Verfahren hat gegenüber der Inkubation den Vorzug, daß es Hinweise auf die Dynamik des Sekretionsvorganges erbringt. Kleine Gewebestückchen der Bauchspeicheldrüse (50 - 200 mg pro Teilchen), isolierte Inseln oder auch Inselzellen werden

mit einem Perifusionsmedium, das die Testsubstanz enthält und fraktioniert gesammelt wird, umströmt (36,37,38,137, 216). Nachteil dieser Technik bei Verwendung kleiner Gewebestückchen ist der Einfluß eventuell freigesetzter exokriner Pankreasenzyme. Durch Zugabe von Trasylol^R und durch sofortiges Einfrieren der abgenommenen Proben kann diese Störgröße jedoch weitgehend ausgeschaltet werden (36).

2.4.3. Perfusion isolierter Bauchspeicheldrüsen

Das Modell der Pankreasperfusion hat den Vorteil, daß das unversehrte Gefäßsystem der aus dem Gesamtorganismus entfernten Bauchspeicheldrüse mit einem Perfusionsmedium durchströmt werden kann. Hierdurch können die Wirkstoffe den B-Zellen auf physiologischem Wege zugeführt werden. Die perfundierte Lösung wird fraktioniert gesammelt und die darin enthaltene Insulinmenge radioimmunologisch bestimmt (55,76,77,88,164,186,236). Darüber hinaus gestattet dieses Verfahren eine exakte Darstellung der Sekretionsdynamik. Nachteil der Methode ist der vergleichsweise große technische Aufwand (36).

Über Untersuchungen der Insulinsekretion am isoliert perfundierten Rattenpankreas wurde erstmals im Jahre 1947 von Anderson und Long berichtet (7). Nach Einführung der radioimmunologischen Insulinbestimmung (86,255) wurde diese Technik von Grodsky, Batts, Bennett und Mitarbeitern wieder aufgegriffen (87,88,89). In der Folgezeit bedienten sich auch andere Arbeitsgruppen dieser Methode (1,30,60,76,77, 135,164,166,186,193,227,236). Die inzwischen von den einzelnen Autoren verschiedentlich vorgenommenen Modifika-

tionen dieses Verfahrens sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Je nach gewählter Fragestellung kann die Testsubstanz unter folgenden Bedingungen untersucht werden:

1. Zusammen mit verschiedenen konzentrierten Glukoselösungen (55,99,217)
2. In vollständiger Abwesenheit von Glukose und anderen Wirkstoffen (165,166,217)
3. In beliebig festgesetzten zeitlichen Intervallen (96,102,165)
 - a) Zusatz der Testsubstanz nach bereits provozierter Insulinsekretion mit einem anderen Wirkstoff (z. B. Glukose) (76,102,166,186)
 - b) Zusatz der Testsubstanz in Intervallen, wobei die Wirkstoffkonzentration variiert werden kann (99,163)

Die Perfusionsversuche können auch mit verschiedenen vorbehandelten Tieren durchgeführt werden, beispielsweise nach Hypophysektomie (57) oder nach Vorbehandlung mit Hormonen (57, 159). Zumeist werden die Studien an isolierten Bauchspeicheldrüsen der Ratte (30,54,55,76,77,165,236), nur selten an isolierten Bauchspeicheldrüsen des Hundes (129,130,193,227) durchgeführt.

TEIL II

3. Untersuchungen zum Einfluß von Harnsäure auf die Insulinsekretion der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse

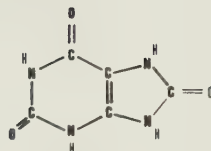
3.1. Fragestellung

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten nachweisen, daß die glukosestimulierte Insulinsekretion unter dem Einfluß der Methylxanthine Coffein, Theophyllin und Aminophyllin potenziert werden kann (2,8,14,38,74,190,201,202).

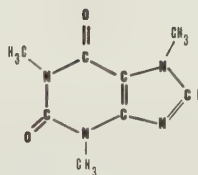
Ob auch die chemisch mit diesen Substanzen verwandte Harnsäure (Abb. 6) - das physiologische Endprodukt des Purinstoffwechsels - die Hormonfreisetzung der B-Zellen zu steigern vermag, ist indessen noch unbekannt. Daher sollten anhand der vorliegenden Arbeit folgende Fragen geklärt werden:

1. Unterliegt die Insulinsekretion dem Einfluß von Harnsäure?
2. Wird die Insulinsekretion im Falle einer Harnsäurewirkung gehemmt oder gesteigert?
3. Liegt im Falle einer sekretionsfördernden Wirkung der Harnsäure ein stimulierender oder ein potenzierender Effekt vor?
4. Welche Phasen der Insulinsekretion lassen sich im Falle einer Harnsäurewirkung beeinflussen?

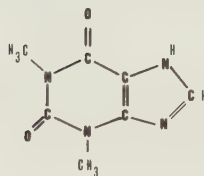
HARNSÄURE



COFFEIN



THEOPHYLLIN



XANTHIN

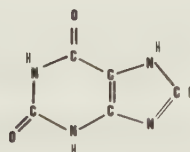


Abb. 6

Strukturformeln von Harnsäure, Coffein, Theophyllin und Xanthin.
Hervorgehoben sind die gemeinsamen Strukturelemente.

3.2. Material und Methode

Um den Einfluß der Harnsäure auf die Insulinsekretion untersuchen zu können, wurde das Modell der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse gewählt.

3.2.1. Bereitstellung des Organpräparates

3.2.1.1. Versuchstiere

Die Untersuchungen erfolgten mit männlichen RF Wistar-Ratten der Zuchtanstalt Mus Rattus AG (Brunnthal). Das Gewicht der Tiere lag zwischen 175 und 370 g. Die Fütterung erfolgte mit Altromin 1314, einer Zuchtdiät für Ratten und Mäuse (Altromin GmbH), die 22,5 % Rohprotein, 5,5 % Rohfett, 4,5 % Rohfasern und 6,5 % Rohasche enthält. Bis zu 90 Minuten vor Versuchsbeginn hatten die Tiere freien Zugang zu Wasser und Nahrung.

3.2.1.2. Anatomische Grundlagen

Für das Verständnis der Präparationsanleitung soll zunächst auf einige Details der Anatomie der Ratte hingewiesen werden (61, 81, 82, 131).

Bauchspeicheldrüse

Das Rattenpankreas ist ein mesenteriales, stark aufgelockertes und weit ausgebreitetes Organ. Charakteristisch ist sein dendritisch gestaltetes Gangsystem. Mehrere kleine Ausführungs-

gänge münden in den von Pankreasgewebe umgebenen Gallengang.

Das Organ liegt zwischen den peritonealen Blättern des Mesenteriums von Duodenum und Milz. Der Blutzufluß erfolgt über die Arteria hepatica, die Arteria mesenterica superior und die Arteria lienalis, der Abfluß über die Pfortader. Mitteld große und kleine Lappchen werden von je einer Arterie versorgt, die nicht nur die Blutzufuhr für das exokrine, sondern auch die für das endokrine Parenchym gewährleistet. Die Langerhans'schen Inseln der Bauchspeicheldrüse werden von Kapillarnäueln umgeben, die bei der Ratte aus 2 - 3 Vasa efferentia Blut erhalten. Der Abfluß des venösen Blutes erfolgt einerseits über mehrere Vasa efferentia zum interacinösen Kapillargeflecht, andererseits über die Inselvenen zu größeren Gefäßen unter Umgehung des exkretorischen Parenchyms.

Magen

Der Magen besteht zu $\frac{2}{3}$ aus dem blindsackförmig gestalteten Vormagen und zu $\frac{1}{3}$ aus dem pyloruswärts gelegenen Drüsenmagen, der eine dicke zweischichtige Muskelwand aufweist. Demgegenüber ist die Wand des Vormagens außerordentlich dünn und fast durchscheinend.

Duodenum

Das Duodenum ist an einem kurzen Gekröse fixiert und bildet eine S-förmige Schleife. Je ein kurzes Band verbindet den Zwölffingerdarm mit der Leber und dem Colon.

Milz

Am ventralen Rand der 2,5 - 3,5 cm langen Milz inseriert das aus zwei Blättern bestehende Gekröse. Das vordere der beiden

Blätter ist das Ligamentum gastrolienale, hinter dem der Pankreasschwanz fast die Milz erreicht.

Arteria coeliaca

Die unpaare Arterie entspringt der Aorta abdominalis und teilt sich sehr bald in folgende Gefäße:

- a) die Arteria lienalis mit Gefäßästen zu Milz, Magen und Pankreas
- b) die Arteria hepatica mit Hauptästen zur Leber und mit Nebenästen zu Magen, Duodenum und Pankreas
- c) die Arteria gastrica sinistra, die zum Magen hin verläuft.

Arteria mesenterica superior

Auch die Arteria mesenterica superior ist ein unpaares Gefäß, das der Aorta abdominalis distal der Arteria coeliaca entspringt. Sie gibt Äste zu Jejunum, Ileum, Coecum und Colon ab, darüber hinaus die Arteria pancreaticoduodenalis inferior, die Zwölffingerdarm und Bauchspeicheldrüse versorgt.

Pfortader

Die Vena portae leitet das Blut aus dem Verdauungstrakt, der Milz und dem Pankreas der Leber zu. Die Venae pancreaticoduodenales superior und inferior transportieren das Blut über die Vena mesenterica superior zur Pfortader. Die Vena pancreatica leitet es über die Vena lienalis in die Pfortader.

3.2.1.3. Präparationstechnik

Da das Pankreas bis kurz vor seiner Entnahme über den Körperkreislauf mit Blut versorgt werden muß, erfolgt die Präparation an der narkotisierten Ratte. Hierzu wird nach kurzer Betäubung



Abb. 7

Narkotisierte und intubierte Wistar-Ratte mit eröffneter Bauchhöhle und nach rechts verlagertem Dünndarmkonvolut

mit Ätherdampf (Diäthyläther reinst/Merck, Darmstadt)
Evipan^R-Natrium (Bayer, Leverkusen) i. p. appliziert. Die
Dosierung beträgt

für 200 g schwere Ratten 3,0 ml 1%iges Evipan^R-Natrium
für 250 g schwere Ratten 3,5 ml 1%iges Evipan^R-Natrium
für 300 g schwere Ratten 4,0 ml 1%iges Evipan^R-Natrium
für 350 g schwere Ratten 4,5 ml 1%iges Evipan^R-Natrium.

Treten während der Operation respiratorische Störungen auf, so
muß das Tier sofort intubiert werden. Diese Maßnahme führt in
der Regel zu einer raschen Normalisierung der Atmung, ein Er-
sticken der Versuchstiere wird hiermit verhindert.

Sobald keine Reflexe mehr auslösbar sind, wird das Abdomen mit
einem langen Medianschnitt vollständig eröffnet. Um die Bauch-
decken nach links und rechts wegklappen zu können, werden vom
oberen und unteren Ende des Medianschnittes aus je zwei Ein-
schnitte nach lateral vorgenommen.

Es muß sorgfältig darauf geachtet werden, daß das Pankreasge-
webe während der Operation nicht austrocknet. Deshalb sollte die
Bauchspeicheldrüse wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung
befeuchtet werden.

Durch vorsichtige Verlagerung des sehr gut beweglichen Dünn-
darmpaketes mit einem mit Kochsalzlösung getränkten Stieltupfer
nach rechts (Abb. 7 und 8) wird die Sicht auf das absteigende Colon
und den mit ihm durch eine Bauchfellduplikatur verbundenen Teil
des Duodenums frei. Mit einer kleinen gebogenen Augenschere
wird die Duplikatur durchtrennt. Das in der Zwölffingerdarm-
schlinge ausgespannte Pankreas kann hierdurch noch weiter nach
rechts verlagert werden, so daß die Arteria mesenterica supe-
rior besser ins Blickfeld gelangt. Sie wird mit zwei Ligaturen
versehen (Abb. 9) und durchtrennt.

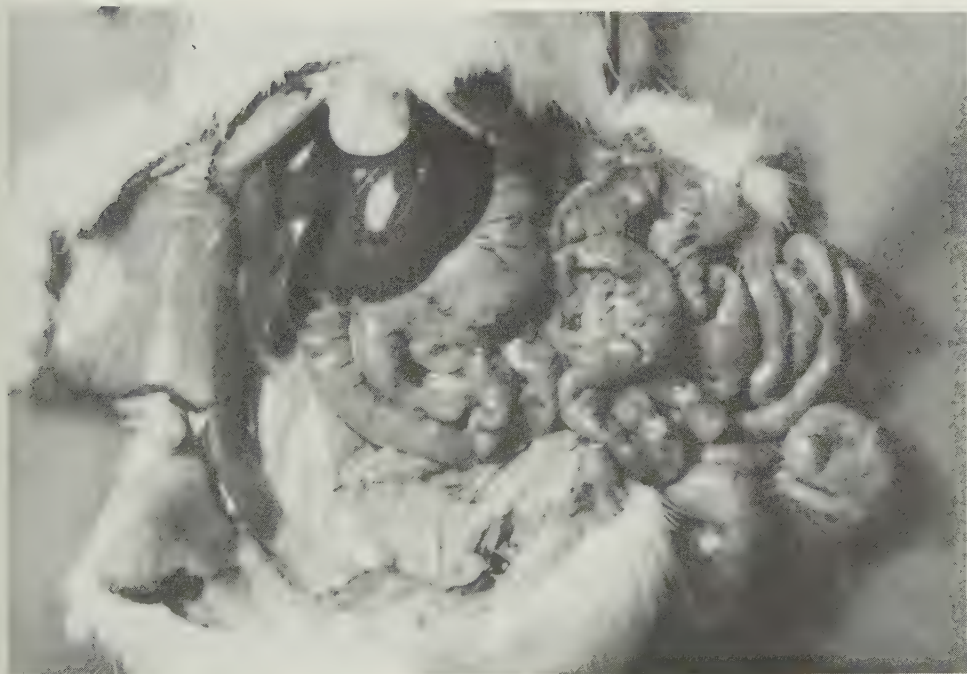


Abb. 8

Eröffnete Bauchhöhle mit Anteilen von Magen, Duodenum, Jejunum, Ileum und Colon



Abb. 9

Die Arteria mesenterica superior ist mit zwei Ligaturen versehen, zwischen denen die Durchtrennung erfolgt. Rechts im Bild die Duodenalschleife mit dem darin ausgespannten Anteil der Bauchspeicheldrüse

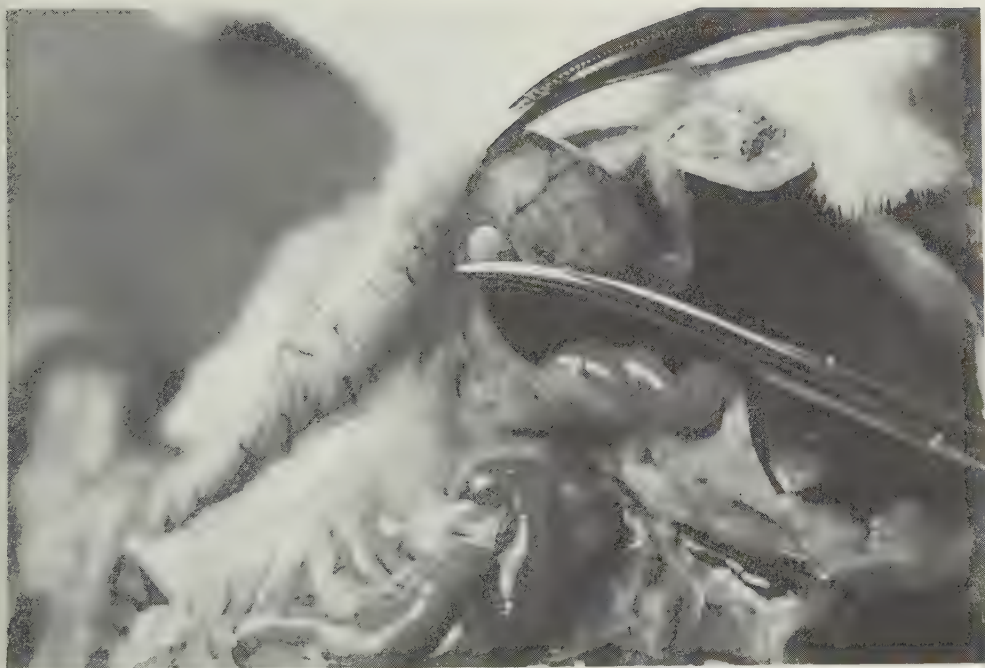


Abb. 10

Das Pankreasgewebe wird vom Colon freipräpariert.



Abb. 11

Durchtrennung des Mesenterialstieles. Um stärkere Blutungen zu vermeiden, kann proximal eine Ligatur angelegt werden. Orientierungspunkte im Bild sind der Sternalfortsatz und die Duodenalschleife.

Das Colon descendens wird mit den im Mesenterium verlaufenden Gefäßen zwischen seinem unteren und mittleren Drittel abgebunden und proximal durchtrennt, danach muß das Dünndarmkonvolut nach links verlagert und der proximale Colonanteil wieder aufgesucht werden. Anschließend wird das mit dem Colon transversum verwachsene Pankreas freipräpariert (Abb. 10). Hierbei ist es zweckmäßig, das Mesenterium durch leichten Zug am Colon breit auszuspannen, um es dicht an seinem Ansatz durchtrennen zu können. Die hier verlaufenden Gefäße müssen geschont werden. Dieses Vorgehen ist nur dann anwendbar, wenn nicht einzelne Läppchen des Pankreas unmittelbar an das Darmrohr heranreichen. In einem solchen Falle müßte der Ansatz des Mesenteriums zusammen mit einem schmalen Streifen der Darmwand wie ein zur Mitte des Lumens gerichteter Keil abgetrennt werden. Zur Entfernung von Jejunum und Ileum wird der distale Teil des Duodenums abgebunden und unterhalb davon reseziert. Um beim Abtrennen des Mesenterialstieles (Abb. 11) größere Blutverluste zu vermeiden, insbesondere bei bereits vorausgegangenen stärkeren Blutungen, sollten zuvor die versorgenden Gefäße ligiert werden.

Nachdem durch die angegebene Präparation eine gute Übersicht im Bauchraum geschaffen ist, werden die zwischen Magen, Oesophagus, Bauchspeicheldrüse und Leber ausgespannten Peritonealduplikaturen (u. a. das Ligamentum hepatogastricum und das Ligamentum hepatoduodenale) teils durchschnitten, teils durchrisen. Der linke Leberlappen und der Lobus papilliformis, der den Oesophagus umgreift, lassen sich leicht aus dem Peritoneum herauschälen. Etwa 5 mm oberhalb der Cardia wird der Oesophagus abgebunden (Abb. 12) und kranial durchtrennt. Hierbei ist darauf zu achten, daß die Arteria gastrica sinistra nicht verletzt wird.



Abb. 12

Ösophagusligatur



Abb. 13

Duodenalschleife (1) und Hauptanteil der Bauchspeicheldrüse (2) sind nach rechts verlagert. Hierdurch wird der für die Heparin-Injektion erforderliche Zugang zur Vena cava inferior frei.

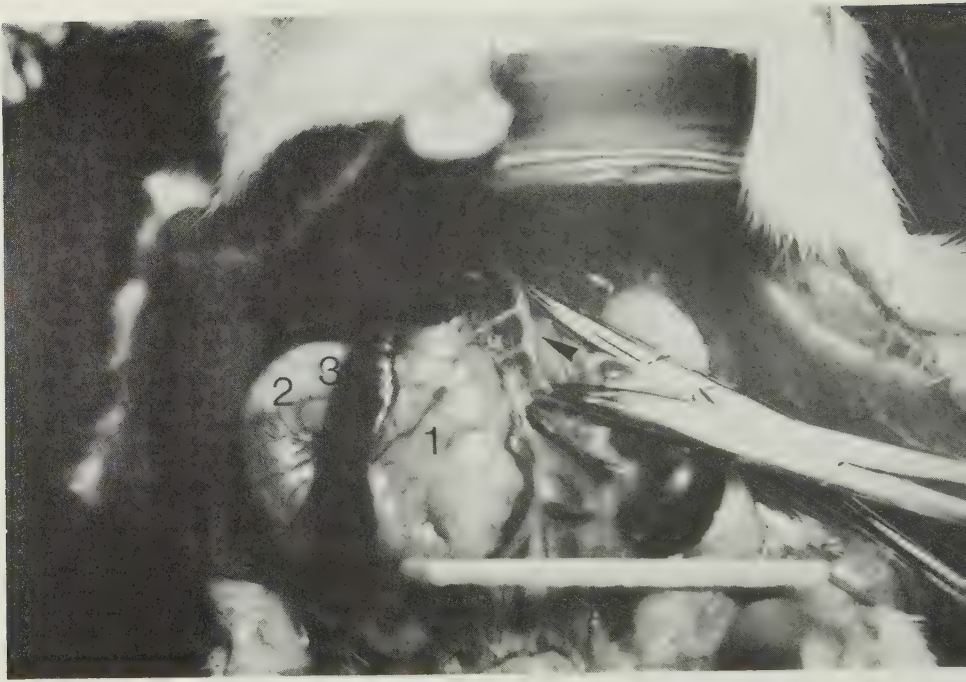


Abb. 14

Freipräparierte Aorta abdominalis (Pfeil) mit den Abgängen der Arteria coeliaca (oben) und der Arteria mesenterica superior (unten). Links im Bild der fast vollständig freipräparierte Organ-komplex, der aus Pankreas (1), Magen (2), Milz (3) und Duodenum besteht; zum Größenvergleich ein Streichholz

Die Duodenalschleife mit dem darin ausgespannten Pankreasgewebe wird nach rechts umgeschlagen. Anschließend werden in die dahinter liegende Vena cava inferior 0,2 ml Thrombophob^R Nordmark (= 1 000 I. E. Heparin) injiziert (Abb. 13). Wenn bereits vorher das peritoneale Bindegewebe, das die Pfortader bedeckt, mit zwei stumpfen Pinzetten ein wenig angerissen wird, läßt sich die Punktion schonender durchführen. Dies hat den Vorteil, daß weniger Blut aus der Einstichstelle austreten kann.

Um die Aorta abdominalis freizulegen, werden Magen, Duodenum, Pankreas und Milz, also der gesamte Organkomplex, der für die anschließende Perfusion verwendet wird, nach links verlagert. Hierdurch gelingt es, freie Sicht auf die linke Hälfte des Retroperitonealraumes mit Niere, Nebenniere und versorgenden Gefäßen zu erhalten.

Nach vorsichtiger Längsdurchtrennung des Peritoneums parietale wird die Aorta sichtbar (Abb. 14 und 15). Es hat sich hierbei bewährt, das Peritoneum nicht auseinander zu schneiden, sondern mit stumpfen Pinzetten einzureißen. Stärkere Blutungen können so vermieden werden. Die Aorta muß vom Abgang der bereits durchtrennten Arteria mesenterica superior, der zur Orientierung dient, bis mindestens 5 mm oberhalb des Abgangs der Arteria coeliaca freipräpariert werden. Dort wird dann eine feine gebogene Klemme an die Aorta angelegt. Von diesem Zeitpunkt ab ist das Pankreas von der Blutversorgung abgeschnitten. Deshalb muß anschließend zügig weitergearbeitet werden.

Der Organkomplex wird nach rechts verlagert, der Ductus choledochus aufgesucht (Abb. 16), ligiert (Abb. 17) und proximal durchtrennt. Danach muß die Pfortader mit einem langen Faden, der am Präparat belassen wird, möglichst dicht am Leberhilus abgebunden und leberwärts durchtrennt werden.



Abb. 15

Freipräparierte Aorta abdominalis mit den Abgängen der Arteria coeliaca (oben) und der Arteria mesenterica superior (unten). Die Durchtrennung der Aorta abdominalis erfolgt an den markierten Stellen.



Abb. 16

Gallengang, der an der markierten Stelle abgebunden und durchtrennt wird.

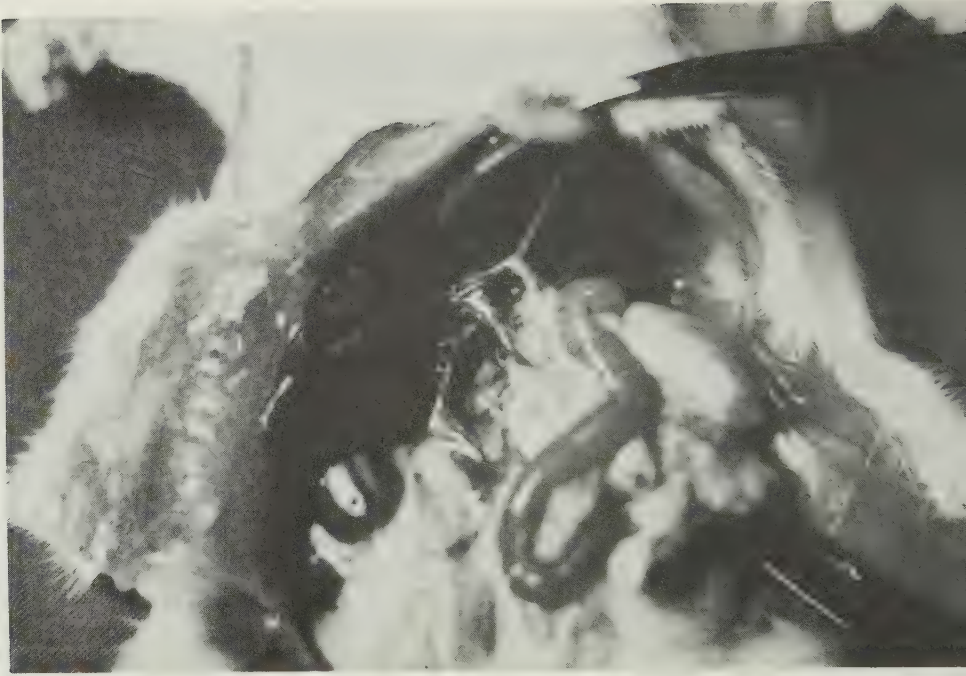


Abb. 17

Mit einer Ligatur versehener Gallengang, darunter die Pfortader, die dicht am Leberhilus durchtrennt wird.

Nach erneutem Aufsuchen der Aorta erfolgt auch deren Durchtrennung zwischen dem Abgang der Arteria mesenterica superior und dem der Arteria coeliaca, erst danach die Durchtrennung zwischen Arteria coeliaca und proximal angelegter Klemme. Anschließend werden die zentral in der Bauchhöhle gelegenen Bauchfellduplikaturen und Bindegewebsstränge durchtrennt und das gesamte Präparat, das aus Magen, Duodenum, Milz und Pankreas besteht, wird entnommen.

Die Klemme an der Aorta wird entfernt, damit die Ratte noch in tiefer Narkose ausbluten kann. Darüber hinaus wird das Zwerchfell perforiert. Das Organpräparat sollte so schnell wie möglich an das Perfusionssystem angeschlossen und durchströmt werden.

3.2.2. Perfusionsmedium

Für das Ansetzen der Perfusionslösung werden folgende Chemikalien benötigt:

1. Stammlösung I: 62,90 g NaCl
 3,61 g KCl
 1,62 g KH_2PO_4
 2,93 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$
 ad 1 000 ml Aqua dest.

2. Stammlösung II: 21,10 g NaHCO_3
 ad 1 000 ml Aqua dest.

3. Stammlösung III: 3,73 g $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$
 ad 1 000 ml Aqua dest.

4. Dextran (Serva 18 680)

5. Serum-Albumin vom Rind (trocken, reinst/Behring-Werke
 ORHD ²⁰)
 ²¹)

6. Glukose (wasserfrei/Serva 22 700)

7. Harnsäure (für biochemische Zwecke/Merck, Darmstadt)

Da die Perfusionslösung täglich frisch angesetzt wird, ist es zweckmäßig, an einem Tage zwei Perfusionen durchzuführen. Das für zwei Versuche erforderliche Perfusat von insgesamt 850 ml wird im einzelnen wie folgt hergestellt:

Zunächst werden in einem Becherglas

595 ml H_2O

85 ml Stammlösung I

85 ml Stammlösung II

auf $40^{\circ}C$ erhitzt und mit 34 g Dextran versetzt. Sobald das Dextran vollständig gelöst ist, gibt man 2,12 g Serum-Albumin vom Rind und anschließend 85 ml der Stammlösung III hinzu. Mit 0,1 n HCl wird der pH-Wert der Lösung auf 7,35 korrigiert. Verunreinigungen müssen abfiltriert werden.

Die erhaltene Pufferlösung weist folgende Zusammensetzung auf:

Na^{+}	132,62 mMol/l
K^{+}	6,03 mMol/l
Mg^{++}	1,19 mMol/l
Ca^{++}	2,54 mMol/l
Cl^{-}	117,42 mMol/l
$H_2PO_4^{-}$	1,19 mMol/l
SO_4^{--}	1,19 mMol/l
HCO_3^{-}	25,12 mMol/l
Dextran	4,00 g/100 ml
Serum-Albumin vom Rind	0,25 g/100 ml

Von den insgesamt 850 ml Lösung werden 350 ml für die Vorperfusion (Perfusat A) und 500 ml für die Hauptperfusion (Perfusat B) verwendet.

Zur Stimulation der B-Zellen wurden dem Perfusat B (500 ml) je nach gewählter Versuchsbedingung folgende Glukosemengen zugesetzt:

0,50 g zur Herstellung einer Perfusionslösung mit einer Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml

0,75 g zur Herstellung einer Perfusionslösung mit einer Glukosekonzentration von 150 mg/100 ml

1,50 g zur Herstellung einer Perfusionslösung mit einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml.

Die unterschiedlich konzentrierten Glukoselösungen wurden in einer ersten Versuchsreihe ohne, in einer zweiten mit Harnsäure zugeführt. Die gewählte Harnsäurekonzentration betrug 12,0 mg/100 ml. Hierzu mußten im Perfusat B (500 ml) 60 mg Harnsäure über einen Zeitraum von 2 bis 3 Stunden gelöst werden.

3.2.3. Versuchsanlage

Alle Versuche erfolgten am isoliert perfundierten Rattenpankreas. Hierbei wird das Organ während einer Vorperfusionsperiode mit substratfreier (Perfusat A), während einer Hauptperfusionsperiode mit substrathaltiger Pufferlösung (Perfusat B) durchströmt. Vor Beginn jeder Perfusion werden die beiden Lösungen in einer Rezirkulationsperiode von 30 Minuten Dauer mit Carbogen angereichert. Technische Voraussetzung für die Durchführung der Versuche ist eine Anlage, deren Aufbau der Abbildung 18 zu entnehmen ist.

Die Perfusionslösungen A und B werden dem Organ mit Hilfe zweier voneinander unabhängiger Zirkulationssysteme (S_A und S_B) über zwei Dreiwegehähne (D_A und D_B) zugeführt.

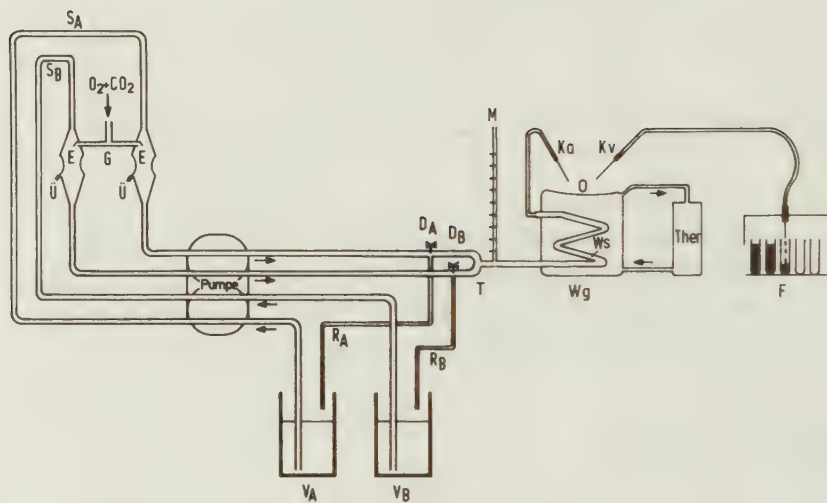


Abb. 18

Versuchsanlage für die Perfusion des isolierten Rattenpankreas
(Zeichenerklärung auf Seite 73)

zu Abb. 18

D _A :	Dreiwegehahn von System A
D _B :	Dreiwegehahn von System B
E:	Öffnung in den beiden Begasungskammern für den Eintritt des O ₂ /CO ₂ -Gemisches
F:	Fraktionensammler
G:	Begasungsvorrichtung
Ka:	Zuführende, arterielle Kanüle, die an die Arteria coeliaca angeschlossen wird
Kv:	Ableitende, venöse Kanüle, die an die Vena portae angeschlossen wird
M:	Steigrohr zur Messung des Perfusionsdruckes
O:	Organträger
Pumpe:	Schlauchpumpe mit vier Durchläufen
R _A :	Rücklauf vom System A zum Vorratsgefäß V _A
R _B :	Rücklauf vom System B zum Vorratsgefäß V _B
S _A :	System A
S _B :	System B
T:	T-Rohr
Ther:	Thermostat mit Heizspirale und Pumpe; von hier aus wird konstant auf 37°C temperiertes Wasser in das Wärmegefäß (Wg) gepumpt.
Ü:	Überlauf für angestaute Perfusionslösung und Austritt für das O ₂ /CO ₂ -Gemisch
V _A :	Vorratsgefäß für die substratfreie Perfusionslösung
V _B :	Vorratsgefäß für die substrathaltige Perfusionslösung
Wg:	Wärmegefäß, das mit erhitztem Wasser (37°C) durchströmt wird; an seiner Oberfläche befindet sich eine Vertiefung als Organträger.
Ws:	Wärmeschlangen im Wärmegefäß (Wg)

Weitere Erklärungen sind dem Text zu entnehmen.

Mit Hilfe einer Schlauchpumpe, die vier getrennte Durchläufe besitzt, werden die beiden Perfusionslösungen über Silikon-schläuche aus den Vorratsgefäßen (V_A und V_B) angesaugt. Zunächst durchlaufen Perfusat A und Perfusat B die Pumpe ein erstes Mal, werden danach in einer Begasungsvorrichtung (G) mit Carbogen angereichert, passieren die Schlauchpumpe ein zweites Mal und kehren bei auf Rücklauf (R_A und R_B) gestellten Dreiwegehähnen (D_A und D_B) in die beiden Vorratsgefäße zurück. Ein solcher Umlauf ist für die Rezirkulation der Perfusionslösungen erforderlich. Die beiden Begasungsvorrichtungen besitzen jeweils eine Öffnung für den Eintritt (E) und für den Austritt des Carbogengases. Die Austrittsöffnung dient zugleich als Überlauf (Ü) für die Rückleitung von angestaumtem Perfusat in die Vorratsgefäße.

Die Perfusionslösungen A und B werden der jeweiligen Perfusionsperiode entsprechend wahlweise über die zugehörigen Dreiwegehähne der arteriellen Kanüle (K_a) zugeleitet. Hierbei durchläuft das Perfusat ein System von Wärmeschlangen (W_s), um eine konstante Temperatur von 37°C zu erreichen. Voraussetzung für die gewünschte Temperierung ist ein Wärmeaustauscher (Ther), aus dem über einen separaten Kreislauf konstant auf 37°C erhitztes Wasser in das Wärmegefäß (W_g) gepumpt wird.

Die Messung des Perfusionsdruckes erfolgt über ein auf das Niveau des Organpräparates geeichtes Steigrohr (M).

Auf dem Organträger (O), einer schalenförmigen Vertiefung des Wärmegefäßes, wird auch das Präparat auf 37°C erwärmt und durch Anschluß an die zuführende arterielle Kanüle (K_a) und die ableitende venöse Kanüle (K_v) von der Arteria coeliaca bis zur Vena portae durchströmt. Anschließend wird das Per-

fusat dem Fraktionensammler (F) zugeleitet.

3.2.4. Durchführung der Versuche

3.2.4.1. Vorbereitung der Versuchsanlage

Das Perfusat B wird mit Hilfe der Schlauchpumpe in den Kreislauf B (S_B) und von dort über den Dreiwegehahn (D_B) zunächst nur bis zum T-Rohr (T) gepumpt. Das substratfreie Perfusat A hingegen wird über den Kreislauf A (S_A) bis zur zuführenden arteriellen Kanüle (K_a) eingefüllt.

Um die beiden Perfusionslösungen ausreichend mit Sauerstoff anzureichern bzw. mit CO_2 zu äquilibrieren, ist es erforderlich, die Lösungen während einer halbstündigen Rezirkulationsperiode bei auf Rücklauf (R_A und R_B) gestellten Dreiwegehähnen eine carbogenhaltige Atmosphäre (95 % O_2 und 5 % CO_2) durchlaufen zu lassen (G).

Bevor das Rattenpankreas für die Perfusion bereitgestellt wird, sollte die Schlauchpumpe auf eine Transportrate von 5 ml/min geeicht werden.

Um der Gefahr einer Luftembolie im Pankreasgewebe vorzubeugen, muß sorgfältig darauf geachtet werden, daß sich keine Luftbläschen im Zirkulationssystem befinden. Komplikationen wie Kompressionseffekte auf umschriebene Organareale oder gar Perforationen des Gefäßsystems können so vermieden werden.

3.2.4.2. Organanschluß und Einleiten der Perfusion

Zunächst muß das Organpräparat auf einer mit physiologischer Kochsalzlösung benetzten Glasschale so ausgebreitet werden, daß

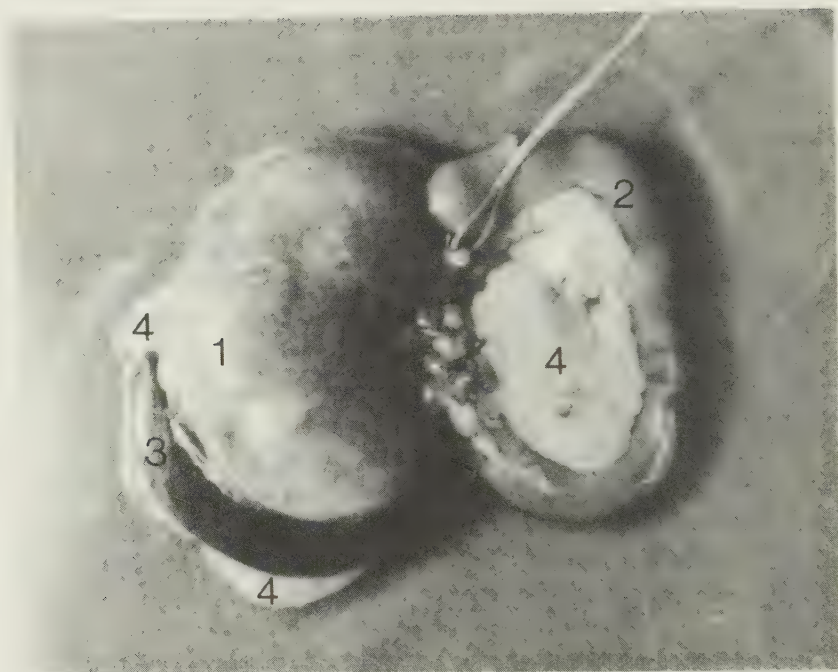


Abb. 19

Aus dem Organismus entfernter Organkomplex, der aus Magen (1), Duodenum (2) und Milz (3) besteht; dazwischen die diffus ausgebreiteten Pankreaslappchen (4), am Faden der Stumpf der Vena portae.

die Duodenalschleife nach rechts, der Magen mit der seitlich etwas darunter liegenden Milz nach links und der Pylorus nach oben hin gelagert wird (Abb. 19). Danach sollte der Drüsenmagen mit einer feinen Schere schlitzförmig eröffnet und der Mageninhalt zum Teil herausgepreßt, zum Teil mit physiologischer Kochsalzlösung herausgespült werden. Um hinter dem Magen vorhandene Drüsenläppchen zu schonen, wird der Magen über die Milz hinweg nach außen gezogen. Hierdurch kommen die Milz und die in ihrer Bauchfellduplikatur eingeschlossenen Pankreasläppchen in der Mitte zu liegen.

Anschließend kann das Präparat auf dem Organträger des Wärmegefäßes deponiert werden. Um ein Verrutschen während der Perfusion zu vermeiden, wird die Bauchspeicheldrüse mit Hilfe eines untergelegten Tupfers fixiert. Diese Maßnahme ist vor allem deshalb erforderlich, damit bislang durchgängige Gefäße nicht abgeknickt werden und ein plötzlicher Abfall der Insulinkonzentration im Perfusat vermieden wird. Außerdem gewährleistet diese Fixierung, daß ein vorher eventuell abgeknicktes Gefäß nicht plötzlich durchströmt wird. Für den betroffenen Versorgungsbe- reich würde der initiale Insulinpeak unter einer solchen Voraussetzung verspätet erscheinen und die Sekretionsdynamik entsprechend verändern.

Über eine Sonde, die in die Öffnung des Drüsenmagens eingebunden wird, können Magen- und exokrines Pankreassekret abgeleitet werden, ohne mit dem Bauchspeicheldrüsengewebe weiter in Kontakt zu kommen. Für den Sondenzugang muß der Drüsenmagen gewählt werden, weil sich dessen muskelstarke Wand im Gegensatz zum dünnwandigen Vormagen nach dem Einschnitt pilzartig nach außen stülpt. Der so entstandene Ringwulst wird in eine Schlinge gelegt. Dadurch kann die eingeführte Sonde besser fixiert werden (Abb. 20).



Abb. 20

In den Drüsenmagen eingebundene Kunststoffsonde



Abb. 21

Organkomplex auf dem Organträger des Wärmegefäßes. Links die in die Arteria coeliaca eingebundene zuführende Kanüle, rechts die in die Vena portae eingebundene ableitende Kanüle

Der resezierte Anteil der Aorta abdominalis wird gegenüber dem Abgang der Arteria coeliaca in Längsrichtung aufgeschnitten. Die durchtrennte Aortenwand bildet einen rechteckigen Lappen, aus dessen Mitte die Arteria coeliaca entspringt. Mit Hilfe zweier gebogener Pinzetten, die den Lappen beidseitig fassen, wird die Arteria coeliaca über die zuführende arterielle Kanüle (Ka) gezogen und festgebunden (Abb. 21 und 22).

Danach wird das Lumen der Pfortader mit einer feinen Augenschere knapp unterhalb der Ligatur, an der der lange Faden belassen wurde, eröffnet. Es ist zweckmäßig, den langen Faden mit der linken Hand festzuhalten und mit der rechten Hand eine Branche der gebogenen Pinzette in das Gefäßlumen einzuführen. Nach vorsichtigem Spreizen des Gefäßlumens wird die Pfortader über die ableitende Kanüle (Kv) gestülpt. Um ein Abgleiten der schlaffen Pfortader zu vermeiden, wird der Haltefaden vorübergehend an der Kanüle festgeklemmt. Erst dann wird die Vena portae endgültig an der Kanüle fixiert (Abb. 21 und 22). Vor dem Anschluß der Arterie und der Vene müssen die beiden an das Wärmegefäß montierten Kanülen in eine Position gebracht werden, die der natürlichen Verlaufsrichtung der Gefäße entspricht. Um ein Austrocknen zu verhindern, muß das Organpräparat während der gesamten Perfusionsdauer mit feuchten Mullstreifen bedeckt werden.

Bei Einleitung der Perfusion kann von folgenden bereits getroffenen Vorbereitungen ausgegangen werden:

1. Vom Wärmebad wird erhitztes Wasser (37°C) durch den Organträger des Wärmegefäßes gepumpt. Hierbei muß das Wasser von unten nach oben transportiert werden. Die



Abb. 22

Anschluß der Arteria coeliaca an die zuführende Kanüle (links)
und Anschluß der Vena portae an die ableitende Kanüle (rechts)

Ausbildung einer durch eingeströmte Luftbläschen entstehenden isolierenden Luftschicht unter dem Organpräparat läßt sich so vermeiden.

2. Carbogengas (95 % O₂ und 5 % CO₂) strömt in die Begasungskammern ein.
3. Die Schlauchpumpe läuft, Perfusat A und B zirkulieren in ihren Systemen, die Dreiwegehähne sind zunächst auf Rücklauf gestellt.

Zum Einleiten der Perfusion wird der Dreiwegehahn A auf Kanüle gestellt. Ein ausreichender Perfusionsdruck ist bei etwa 60 mm Hg, entsprechend einer ca. 80 cm hohen Wassersäule, erreicht. Falls sich das Perfusat in der Pfortader anstaut ohne abzufließen, erzeugt man im ableitenden System mit Hilfe einer Spritze durch Aspiration einen leichten Sog, bis das Perfusat der eigenen Schwerkraft folgend abfließt und fraktioniert gesammelt werden kann.

3.2.5. Auswertung der Versuche

3.2.5.1. Meßmethoden

3.2.5.1.1. Insulinbestimmung

Die Insulinkonzentrationen wurden radioimmunologisch bestimmt (113,128,139,255). Dem Verfahren liegt das Prinzip der Isotopenverdünnung zugrunde. Hierbei wird die Bindung von Jod-125-markiertem Insulin an den Hormonantikörper (Antischweineinsulinserum vom Meerschweinchen) durch das zu bestimmende unmarkierte Insulin kompetitiv und quantitativ gehemmt; d. h. bei steigenden Konzentrationen von unmarkiertem Hormon nimmt der Anteil der anti-

körpergebundenen Radioaktivität ab, da das unmarkierte Hormon das markierte aus seiner Bindung an den Antikörper verdrängt.

Zur Herstellung einer Eichkurve werden dem Ansatz verschiedene bekannte Insulinmengen als Standard zugesetzt. Nach entsprechender Inkubationszeit wird das antikörpergebundene Jod-125-Insulin (G) von dem freien Jod-125-Insulin (F) mit Hilfe einer Dextranaktivkohlesuspension getrennt. Die Radioaktivität des Jod-125-Insulin-Antikörperkomplexes zeigt dann eine, den verschiedenen Konzentrationen des als Standard zugesetzten unmarkierten Insulins entsprechende Abnahme der Bindung von markiertem Hormon.

Setzt man anstelle der Hormonstandardlösungen Serum ein, so wird das darin enthaltene Insulin je nach Konzentration Jod-125-Insulin aus seiner Antikörperbindung verdrängen. Mit Hilfe der Eichkurve läßt sich dann das Ausmaß der Verdrängung einer bestimmten Insulinkonzentration zuordnen. Die Berechnung der gesuchten Insulinkonzentration in $\mu\text{E/ml}$ erfolgt nach der Formel:

$$\frac{G_x}{F_x} = \frac{C_x - B_x}{A - C_x}$$

Hierbei bedeuten:

G_x = an Antikörper gebundenes Jod-125-Insulin

F_x = an Dextranaktivkohle adsorbiertes Jod-125-Insulin

C_x = Zählrate von 1 ml Analyse nach der Adsorption

B_x = Zählrate von 1 ml der Analysenkontrolle nach der Adsorption

A = Zählrate von 1 ml der Gesamt-Jod-125-Aktivität

Die Methode, die primär für menschliches Insulin erarbeitet wurde, mußte dahingehend modifiziert werden, daß anstelle der üblichen 2

Stunden über einen Zeitraum von 24 Stunden bei 4⁰ C inkubiert wurde.

Die eingesetzten Eichkonzentrationen des Ratteninsulins umfaßten einen Bereich von 0 - 200 μ E/ml. Da für verschiedene Versuchsbedingungen auch weit höhere Konzentrationen zu erwarten waren, mußten zum Teil gleichzeitig mehrere Verdünnungen angesetzt werden. Hierbei handelte es sich je nach Versuchszeitpunkt und Versuchsart um die Verdünnungen 1:1, 1:3, 1:6 und 1:12. Die für alle Fraktionen ermittelten Insulinkonzentrationen wurden für jede Verdünnung doppelt bestimmt.

3.2.5.1.2. Glukosebestimmung

Die für verschiedene Versuchszeitpunkte ermittelten Glukosekonzentrationen im Perfusionsmedium wurden nach der Hexokinase-Methode mit der Biochemica Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH bestimmt (23, 26, 228).

3.2.5.1.3. Harnsäurebestimmung

Die Bestimmung der im Perfusat enthaltenen Harnsäurekonzentrationen erfolgte enzymatisch mit dem Urica-quant Test der Boehringer Mannheim GmbH (24, 27).

3.2.5.1.4. Lactatbestimmung

In vier Fällen wurden die in den gesammelten Fraktionen enthaltenen Lactatkonzentrationen ermittelt. Die Messungen erfolgten mit dem enzymatisch arbeitenden UV-Test. Auch hierfür wurde die Biochemica Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH verwendet (25, 28).

3.2.5.2. Mikroskopische Untersuchungen

3.2.5.2.1. Lichtmikroskopische Untersuchungen

Insgesamt wurden 11 Organpräparate nach Beendigung des Versuches in Bouin'scher Lösung fixiert und nach Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (HE) lichtmikroskopisch untersucht.

Nach einer jeweils 15 Minuten andauernden Vorperfusion mit substratfreiem Medium erfolgte in 3 Fällen eine Hauptperfusion mit substrathaltigem Medium über einen Zeitraum von 9 Minuten, in 8 Fällen eine Hauptperfusion über eine Distanz von 30 bis 44 Minuten. Während der Hauptperfusion wurden der Perfusionslösung Wirkstoffe in folgenden Konzentrationen zugesetzt:

1. 100 mg/100 ml Glukose + 48 μ g/100 ml Glibenclamid (n = 1)
2. 100 mg/100 ml Glukose (n = 2)
3. 100 mg/100 ml Glukose + 12 mg/100 ml Harnsäure (n = 4)
4. 300 mg/100 ml Glukose (n = 2)
5. 300 mg/100 ml Glukose + 12 mg/100 ml Harnsäure (n = 2)

3.2.5.2.2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

11 perfundierte Organe wurden elektronenoptisch untersucht. In 2 Fällen war lediglich eine Vorperfusion (15 Minuten Dauer) mit substratfreiem Perfusat vorausgegangen, in 4 Fällen eine zusätzliche Hauptperfusion von 9 Minuten und in 5 weiteren Fällen eine solche von 42 bis 46 Minuten Dauer. Das für die Hauptperfusion bereitete Perfusionsmedium enthielt folgende Wirkstoffkonzentrationen:

1. 100 mg/100 ml Glukose + 48 μ g/100 ml Glibenclamid (n = 1)
2. 100 mg/100 ml Glukose (n = 2)
3. 100 mg/100 ml Glukose + 12 mg/100 ml Harnsäure (n = 2)

4. 300 mg/100 ml Glukose (n = 2)
5. 300 mg/100 ml Glukose + 12 mg/100 ml Harnsäure (n = 2)

Das aus dem perfundierten Pankreas entnommene Biopsiematerial wurde in 2,5%iger Glutaraldehydlösung vorfixiert und mit 1%iger Osmiumtetroxydlösung nachfixiert, in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und in Eponkunstharz eingebettet. Semidünnschnitte wurden mit einem Ultratom III angefertigt und zur Lokalisation der B-Zellen mikroskopisch begutachtet. Nach Kontrastieren der Ultradünnschnitte mit Bleicitrat und Uranylacetat erfolgte in einem Siemens-Elmiskop 101 die endgültige Analyse.

3.2.5.3. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der einzelnen Meßwerte erfolgte mit Hilfe des F-Testes, des t-Testes für homogene Varianzen und des Kolmogoroff-Smirnow-Testes für zwei Stichproben. Für einige Parameter, wie den Perfusionsdruck und das Gewicht der Versuchstiere, mußten zusätzlich der t-Test für heterogene Varianzen und der U-Test nach Mann und Whitney für kleine Stichproben eingesetzt werden (39,225).

Verglichen wurden jeweils die während der gesamten Hauptperfusion gemessenen Insulinmengen I_G und die während der ersten und zweiten Sekretionsphase gemessenen Insulinteilmengen I_I und I_{II} . Darüber hinaus erfolgte der Vergleich für die pro Minute errechnete mittlere Sekretionsrate mI_G , mI_I und mI_{II} . Für die Berechnung der initialen Insulinfreisetzung wurde der Zeitraum vom Anstieg bis zum vorübergehenden Abfall der Insulinkonzentration auf ein erstes Sekretionsminimum, für die Berechnung der zweiten Sekretionsphase der nachfolgende Zeitraum bis zum Ende des Perfusionsversuches gewählt.

3.3. Untersuchungen zur Brauchbarkeit und Standardisierung des Perfusionsmodells

3.3.1. Vorversuche

3.3.1.1. Untersuchungen zum Sekretionsablauf

Zum Nachweis der Sekretionscharakteristik wurden insgesamt 7 Organe präpariert, an die Perfusionsanlage angeschlossen und über einen Zeitraum von 20 Minuten mit glukosefreiem, danach über weitere 30 Minuten mit glukosehaltigem Perfusat in einer Konzentration von 300 mg/100 ml durchströmt. Um den geeigneten Zeitpunkt für den Beginn der Hauptperfusion feststellen zu können, wurden die Fraktionen vom Beginn der Vorperfusion an in Abständen von jeweils einer Minute gesammelt und im Hinblick auf mögliche Insulinbeimengungen untersucht.

Es zeigte sich, daß Insulin bereits während der glukosefreien Vorperfusion in unterschiedlichen Mengen abgegeben wurde. Die Dynamik dieser Hormonabgabe war durch einen langsam einsetzenden Anstieg und einen allmählichen Wiederabfall gekennzeichnet. Spätestens nach 15 - 17 Minuten konnten keine meßbaren Insulinkonzentrationen mehr nachgewiesen werden (Abb. 23).

Durch die nachfolgende Zugabe von Glukose kam es zu einem mehrphasigen Sekretionsablauf mit einer initialen Gipfelsekretion, gefolgt von einer sehr kurzen Periode mit nur geringer Insulinfreisetzung und erneutem Anstieg, dem im weiteren Verlauf ein Plateau folgte. Die erste Phase der glukosestimulierten Insulinsekretion war nach 5 - 7 Minuten beendet. Über das tatsächliche Maximum der Spitzensekretion waren jedoch bei der gewählten Fraktionensammlung in Minutenabständen keine siche-

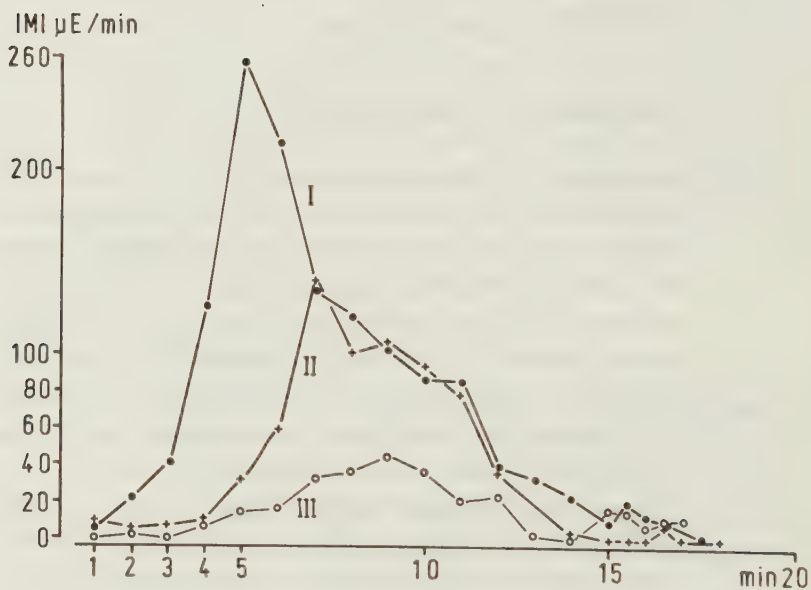


Abb. 23

Insulinfreisetzung der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse während der Vorperfusion mit glukosefreiem Medium (I-III)

ren Aussagen möglich. Die gefundene Sekretionsdynamik ist mit der in den Abbildungen 26 und 37 dargestellten identisch.

Schlußfolgerung:

1. Die von verschiedenen Untersuchern am isoliert perfundierten Rattenpankreas beobachtete mehrphasige Insulinsekretion (19, 60, 76, 77, 91, 92, 236) ist mit der Sekretionskinetik der beschriebenen Vorversuche vergleichbar.
2. Die Abgabe von Insulin während der glukosefreien Vorperfusion ist sehr wahrscheinlich die Folge eines Ausspüleffektes. Die mehrphasige Insulinsekretion während der Hauptperfusionsperiode ist Ausdruck der glukoseinduzierten Reaktion der Langerhans'schen B-Zellen.
3. Die Vorperfusion sollte bereits nach 15 Minuten beendet werden, da bei Verlängerung dieser Zeitspanne in der Regel mit keiner weiteren Insulinabgabe zu rechnen ist und darüber hinaus das isolierte Organ für den Hauptteil der Versuche geschont werden muß.
4. Da die während der Hauptperfusion zunächst orientierend durchgeführte Fraktionssammlung in Minutenportionen keine detaillierte Aussage über die anfängliche Spitzensekretion zuließ, erschien es bei der Durchführung weiterer Versuche gerechtfertigt, die Fraktionen während der ersten 10 Minuten in 30 Sekunden-Abständen und erst während der folgenden 10 Minuten in 60 Sekunden-Abständen zu sammeln (vgl. Kap. 3.4.1.3.).

3.3.1.2. Untersuchungen zur Leistungsdauer des isolierten Organs

Für die Planung weiterer Versuche mußte festgestellt werden, bis zu welchem Zeitpunkt eine ausreichende Antwort der B-Zelle auf den kontinuierlich einwirkenden Glukosereiz möglich ist. Dazu wurden zwei Organpräparationen nach einer Vorperfusion (15 Minuten) mit einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml Perfusat stimuliert.

Im ersten Versuch fiel die Insulinsekretion etwa 45 Minuten nach Einsetzen der Glukosestimulation um etwa 40 % ab, blieb dann aber bis zum Versuchsende in der 98. Minute weitgehend konstant.

Beim zweiten Versuch mit einer Perfusionsdauer von insgesamt 88 Minuten stieg die Insulinfreisetzung in der zweiten Sekretionsphase bis zu einem Gipfelwert in der 53. Minute nach Stimulationsbeginn an. Während der folgenden 20 Minuten fiel die Sekretionsrate um etwa 50 % ab (Abb. 24).

Schlußfolgerung:

1. Es kann davon ausgegangen werden, daß das Inselorgan nach einer Vorperfusionsperiode von 15 Minuten Dauer mindestens über einen Zeitraum von 45 Minuten mit einer ausreichenden sekretorischen Leistung auf den Glukosereiz reagiert. Dies entspricht auch den Angaben anderer Autoren, die Hauptperfusionszeiten zwischen 40 und 60 Minuten wählten (1,14,55, 99,102,154,209,236).
2. Aufgrund der offensichtlich limitierten Leistungsdauer des Organs erschien es sinnvoll, die Zeit der Hauptperfusion auf 42 Minuten und die der Gesamtpfusion auf 57 Minuten festzusetzen (vgl. Kap. 3.4.1.3.).

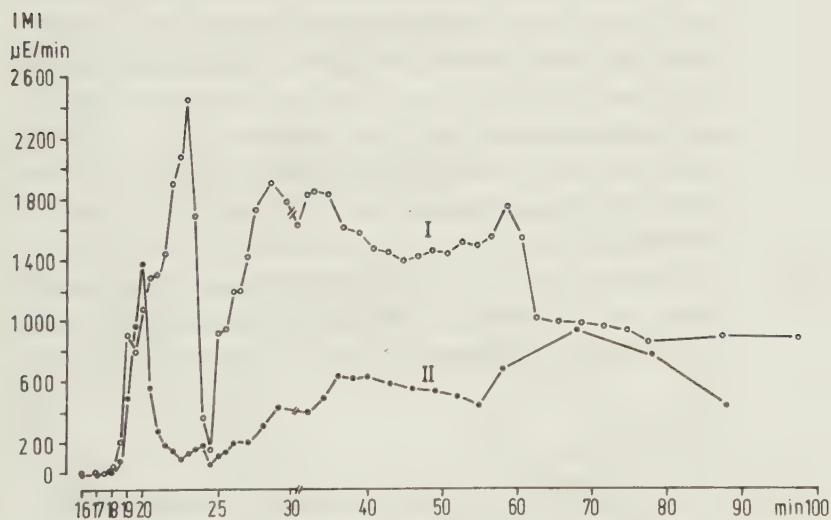


Abb. 24

Insulinsekretion der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse während eines Versuches von insgesamt 98 Minuten Dauer (I) und während eines Versuches von insgesamt 88 Minuten Dauer (II). Stimuliert wurde mit einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml im Perfusat.

3.3.1.3. Untersuchungen zum Nachweis der Insulinsekretion als Reaktion auf den Glukosestimulus

Um die Insulinsekretion als spezifische Antwort auf den Glukose-reiz identifizieren zu können, wurde im Anschluß an die Vorperfusion zunächst über 15 Minuten mit einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml Perfusat stimuliert. In der Folgezeit wurde die Glukosekonzentration durch Zumischen glukosefreien Mediums kontinuierlich auf 0 mg/100 ml reduziert.

Hierbei fiel der Glukosespiegel innerhalb von 3 1/2 Minuten auf 75 mg/100 ml ab, gleichzeitig damit reduzierte sich die Insulinsekretionsrate auf ca. 40 % des Ausgangswertes. Nach weiteren 4 1/2 Minuten kam die Hormonsekretion bei einer Glukosekonzentration von 13 mg/100 ml vollständig zum Erliegen. Auch während der nachfolgenden 33 Minuten blieb die Insulinsekretion aus (Abb. 25).

Schlußfolgerung:

1. Da die Insulinsekretion mit Einsetzen der Glukosestimulation beginnt und mit zunehmendem Konzentrationsabfall des Monosaccharids im Perfusionsmedium auf nicht meßbare Werte abnimmt, ist anzunehmen, daß bei den gewählten Versuchsbedingungen allein der Glukosestimulus für die Freisetzung des Hormons verantwortlich ist (55).
2. Die Abnahme der Insulinsekretion verläuft zum Abfall der Glukosekonzentration in etwa parallel.

3.3.1.4. Untersuchungen zum Verhalten der Insulinsekretion unter dem Einfluß verschiedener Glukosekonzentrationen

Ein Perfusionsversuch wurde mit einer Glukosekonzentration von 150 mg/100 ml im Perfusat, je zwei Perfusionsversuche wurden



Abb. 25

Insulinsekretion der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse in Abhängigkeit von der aktuellen Glukosekonzentration im Perfusat

mit Glukosekonzentrationen von 100 bzw. 300 mg/100 ml im Perfusat durchgeführt.

Hierbei zeigte sich, daß mit der niedrigen Wirkstoffkonzentration von 100 mg/100 ml lediglich eine kurzfristige initiale Gipfelsekretion ausgelöst werden konnte. Die Glukosekonzentration von 150 mg/100 ml bewirkte hingegen eine typisch verlaufende mehrphasige Insulinsekretion. Die gleiche Sekretionscharakteristik wurde mit der Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml induziert. Gegenüber der niedrigeren Konzentration von 150 mg/100 ml ergaben sich jedoch in quantitativer Hinsicht deutlich ausgeprägte Unterschiede (Abb. 26).

Schlußfolgerung:

1. Die bei Glukosekonzentrationen von 100 mg/100 ml im Perfusat im Anschluß an die initiale Gipfelsekretion freigesetzte basale Insulinmenge ist mit der von anderen Autoren gefundenen vergleichbar (76,144,217).
2. Glukosekonzentrationen von 150 und 300 mg/100 ml im Perfusat bewirken eine mehrphasige Insulinsekretion (vgl. Kap. 3.4.2.1.).
3. Da die erste Phase der Insulinsekretion auch bei der niedrigen Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml im Perfusat nachgewiesen werden konnte (vgl. Kap. 3.4.2.1.), kann angenommen werden, daß das initial freigesetzte Hormon leichter verfügbar ist.
4. Die Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml im Perfusat scheint eine Grenzkonzentration zu sein (92,106), oberhalb derer der zwei-phasige Sekretionsverlauf nachweisbar wird.
5. Die mit den Glukosekonzentrationen von 100, 150 und 300 mg/100 ml erzielten Sekretionsraten weisen auf eine Dosiswirkungsbeziehung hin.

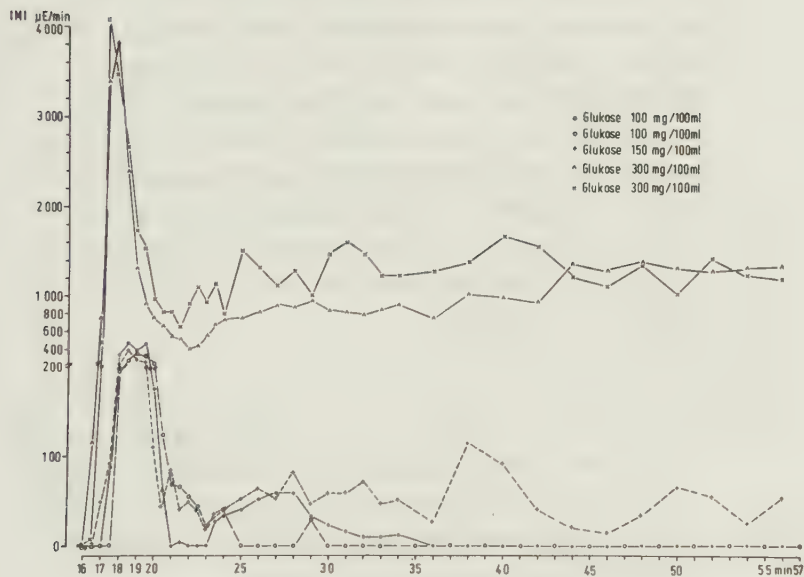


Abb. 26

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen bei Stimulation mit Glukosekonzentrationen von 100, 150 und 300 mg/100 ml

3.3.1.5. Untersuchungen zum Nachweis der Insulinsekretion unter dem Einfluß von Glukose und dem Sulfonylharnstoff Glibenclamid

Um feststellen zu können, ob die Insulinsekretion bei einer basalen Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml im Perfusat durch einen Sulfonylharnstoffreiz weiter gesteigert werden kann, wurde dem Perfusionsmedium Glibenclamid in einer Konzentration von 48 μ g/100 ml zugesetzt.

Hierbei zeigte sich, daß Glibenclamid nicht nur die initiale, sondern auch die nachfolgende Insulinsekretion erheblich zu steigern vermag. Die Werte der sezernierten Insulinmengen und der daraus berechneten Sekretionsraten sind der Tabelle 2, der Sekretionsablauf der Abbildung 27 zu entnehmen.

Schlußfolgerung:

1. In Gegenwart von Glukose in einer Konzentration von 100 mg/100 ml steigert Glibenclamid bei kontinuierlichem Einwirken auf die B-Zelle nicht nur die initiale, sondern auch die nachfolgende basale Insulinsekretion, so daß der charakteristische Zwei-Phasenverlauf erscheint.
2. Die in verschiedenen in vivo- (163,164) und in vitro-Versuchen (36,76,96,99,163,165,186) beobachtete sekretionsfördernde Wirkung des Glibenclamids kann also auch mit der gewählten Versuchsanordnung nachgewiesen werden.

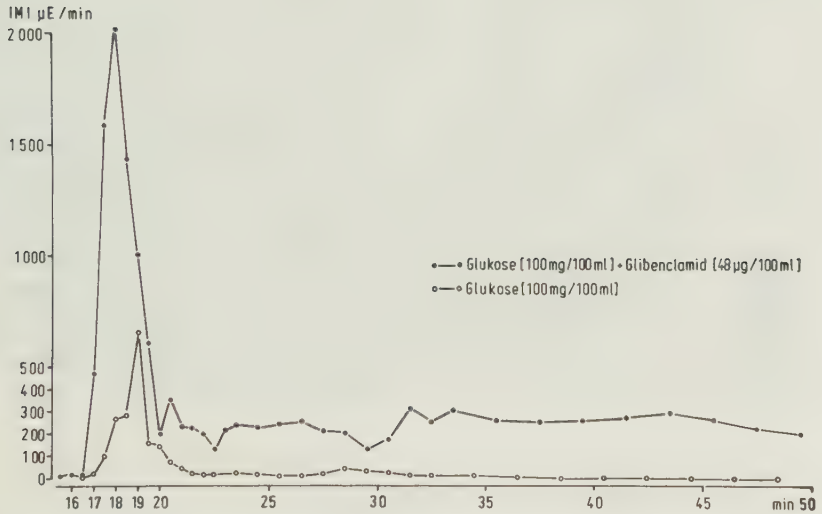


Abb. 27

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) und bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) + Glibenclamid (48 μ g/100 ml)

3.3.2. Kriterien zur Beurteilung der morphologischen und funktionellen Integrität des Organpräparates

3.3.2.1. Morphologische Kriterien

3.3.2.1.1. Lichtmikroskopische Untersuchungen

Anhand der histologischen Befunde konnte nachgewiesen werden, daß sich in den perfundierten Organen wechselweise subkapsuläre, perilobuläre, interlobuläre, perivaskuläre und periductuläre Ödeme unterschiedlich starker Ausprägung entwickelt hatten. Bei einer Perfusionsdauer von 24 Minuten fanden sich lediglich geringgradige, bei einer Perfusionsdauer von maximal 57 Minuten fanden sich hingegen deutlicher ausgeprägte ödematöse Veränderungen. Drüsenazini und Inseln waren jedoch in allen untersuchten Organen gut erhalten. Es konnten weder Nekrosen noch andere Parenchymschäden nachgewiesen werden. Ein Teil der histologischen Untersuchungsergebnisse ist den Abbildungen 28 bis 32 zu entnehmen. Nach Auffassung von Grodsky und Fanska läßt sich die Ödembildung selbst bei Zusatz von kristallinem Rinderalbumin und Dextran zum Perfusat (vgl. Kap. 3.2.2.) nicht vollständig vermeiden. Mit einer Beeinträchtigung der Insulinsekretion ist jedoch nicht zu rechnen (105).

3.3.2.1.2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die detaillierte Analyse der Zellstrukturen erfolgte anhand elektronenoptischer Studien.

Alle untersuchten Biopsiepartikel erbrachten den Beweis, daß es

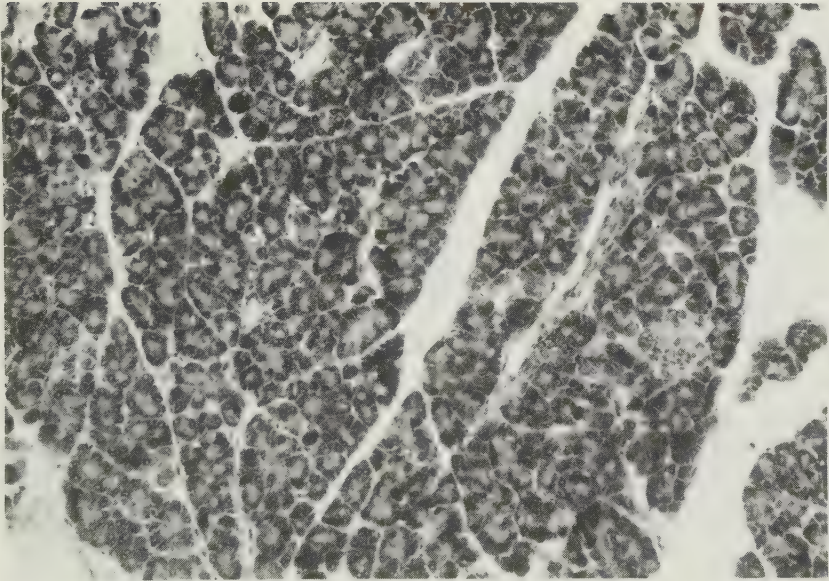


Abb. 28

Bauchspeicheldrüse der Ratte nach Vorperfusion (15 min) und
Hauptperfusion (42 min)

Stimuliert wurde mit Glukose (100 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/
100 ml).

Färbung: HE, Vergrößerung: x 40

Mäßig entwickeltes interlobuläres Ödem, morphologisch intakte
Azinusepithelien, unauffällige Inseln, keine Nekrosen oder dege-
nerative Zytoplasmaveränderungen

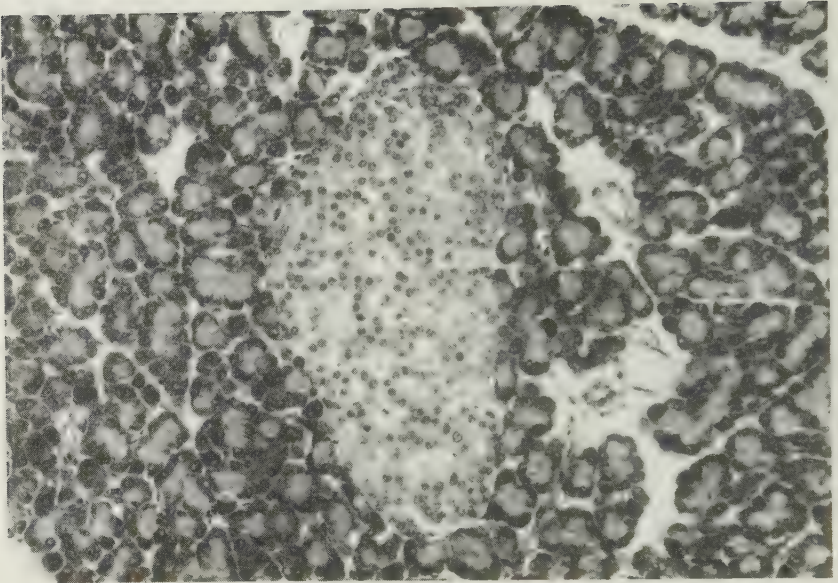


Abb. 29

Bauchspeicheldrüse der Ratte nach Vorperfusion (15 min) und verkürzter Hauptperfusion (9 min)

Stimuliert wurde mit Glukose (300 mg/100 ml).

Färbung: HE, Vergrößerung: x 100

Ausbildung eines geringgradigen Ödems, gut erhaltene, zum Teil entleerte Azinusepithelien, großflächige Insel, keine erkennbaren Zellschäden

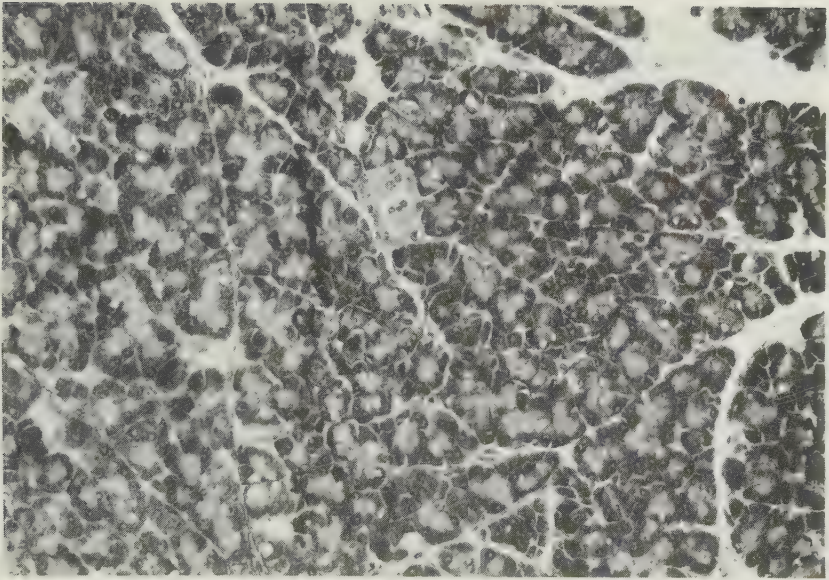


Abb. 30

Bauchspeicheldrüse der Ratte nach Vorperfusion (15 min) und
Hauptperfusion (42 min)

Stimuliert wurde mit Glukose (300 mg/100 ml).

Färbung: HE, Vergrößerung: x 80

Relativ dicht geschlossene Bauchspeicheldrüse, kleiner Ödem-
streifen, vollkommen intakte Epithelien, geringe Verquellung
einzelner Inselzellen, keine Nekrosen

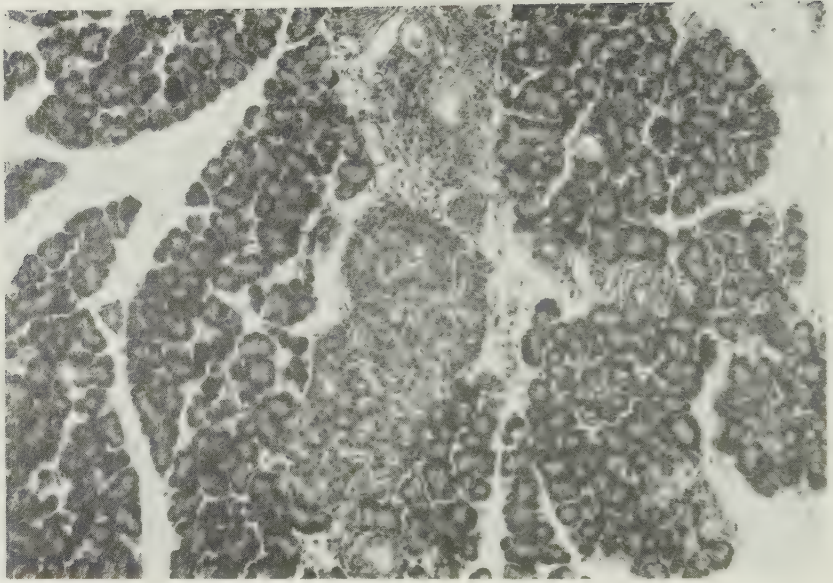


Abb. 31

Bauchspeicheldrüse der Ratte nach Vorperfusion (15 min) und verkürzter Hauptperfusion (9 min)

Stimuliert wurde mit Glukose (300 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml).

Färbung: HE, Vergrößerung: x 40

Sehr gering entwickeltes Ödem, gut erhaltene Azinusepithelien mit scharf gezeichneten Kernen, nur geringgradig aufgetriebene Epithelien der großen Langerhans'schen Insel, keine erkennbaren Nekrosen

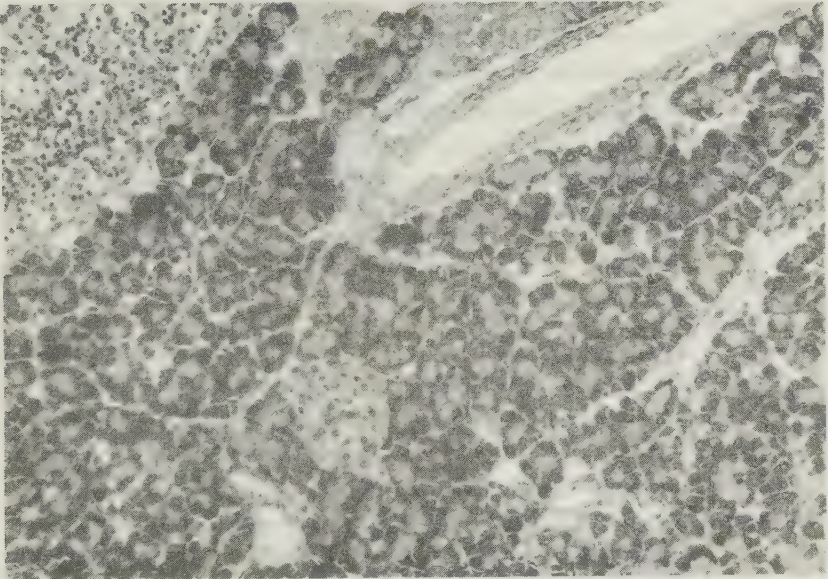


Abb. 32

Bauchspeicheldrüse der Ratte nach Vorperfusion (15 min) und Hauptperfusion (42 min)

Stimuliert wurde mit Glukose (300 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml).

Färbung: HE, Vergrößerung: x 40

Durch ein subkapsulär und perilobulär entwickeltes Ödem auseinander gedrängte Bauchspeicheldrüse, gut erhaltene Azinusepithelien und gut erhaltene, großflächige Insel, keine Nekrosen

sich bei dem Organmaterial um morphologisch intakte Zellverbände aus Inselzellen handelte. Die Integrität der Zelle war durch die kontinuierlich strukturierte Zellmembran, durch intakte Zellorganellen sowie durch einen unauffällig strukturierten Zellkern zu belegen. Darüber hinaus fanden sich in allen Präparationen die für B-Zellen typischen Granula (Abb. 39 - 44).

3.3.2.1.3. Vaskuläre Integrität

Untersuchungen am isoliert perfundierten Rattenpankreas setzen voraus, daß die vaskuläre Integrität gewährleistet ist. Deshalb wird gefordert, daß stärkere Perfusatverluste vermieden werden.

Daß diese Bedingung bei den durchgeführten Versuchen erfüllt war, ging aus den nur geringen Verlusten hervor, die zum größeren Teil sekretions-, zum geringeren Teil diffusionsbedingt waren (257 - vgl. Kap. 3.4.1.7.).

3.3.2.2. Funktionelle Kriterien

3.3.2.2.1. Organspezifische Sekretionscharakteristik

Zuverlässige Aussagen über den Funktionszustand der B-Zellen sind anhand des jeweiligen Sekretionsablaufs möglich. Hierzu zählen das prompte Einsetzen der Insulinsekretion als Antwort auf den Glukosestimulus (55, 236) und die charakteristische Dynamik der Hormonfreisetzung (105). Diese Forderungen waren bei allen Versuchen erfüllt (Abb. 25, 26, 27, 34, 37).

Ein weiterer Hinweis auf die intakte B-Zellenfunktion ist die Unterbrechung der Insulinsekretion beim Wegfall des Glukose-reizes. Dieses Phänomen beweist zugleich, daß die Hormonabgabe keine Folge eines unspezifischen "Auslaufens" der Inselzellen sein kann (55). Anhand eines bereits beschriebenen Vorversuches konnte das Sistieren der Insulinfreisetzung nach Absetzen der Glukosezufuhr belegt werden (vgl. Kap. 3.3.1.3. - Abb. 25).

3.3.2.2.2. Lactatmessung

Obwohl auf Grund der verschiedenen Untersuchungsergebnisse davon ausgegangen werden konnte, daß die Langerhans'schen Inseln während der gesamten Perfusionsdauer weder in ihrer Funktion noch morphologisch beeinträchtigt wurden, sollte anhand von Lactatbestimmungen geprüft werden, ob im Verlauf der einzelnen Versuche mit einer Azidose gerechnet werden muß.

Die nach der Organpassage im Perfusat gemessenen Lactatkonzentrationen wiesen in den ersten Fraktionen vergleichsweise hohe Werte auf (bis zu 8,9 mg/100 ml). In der Folgezeit fiel der Lactatspiegel in zwei Fällen auf nicht meßbare Konzentrationen und in je einem Fall auf 0,5 bzw. 0,85 mg/100 ml ab. In drei Versuchen kam es bis zum Ende der Perfusionsperiode zu einem Wiederanstieg auf maximal 2,5, 2,8 bzw. 5,2 mg/100 ml, in einem Fall war die Lactatkonzentration nach vorausgegangenem Abfall auf Null auch in der Folgezeit nicht meßbar (Abb. 33).

Da die morphologische und funktionelle Integrität der Organe aufgrund anderer Kriterien bis zum Ende der Versuche gewährleistet war, durfte angenommen werden, daß der geringe Wieder-

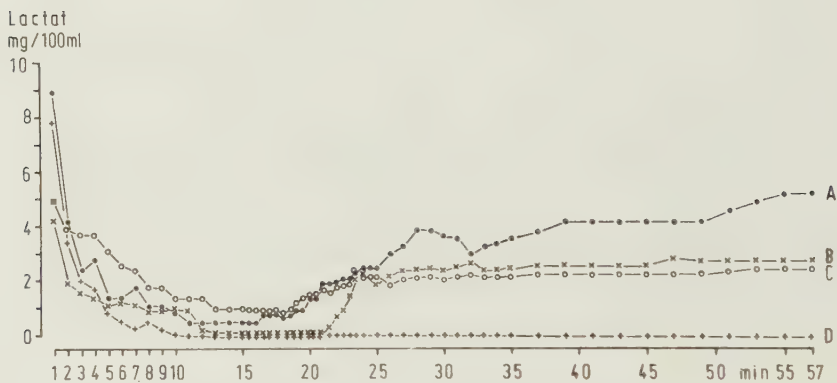


Abb. 33

Lactatkonzentration im Perfusat während der Durchströmung
isolierter Rattenbauchspeicheldrüsen

anstieg der Lactatkonzentration kein Hinweis auf ein funktionell relevantes Sauerstoffdefizit der B-Zelle sein konnte. Die zu Beginn der Versuche leicht erhöht gefundenen Lactatkonzentrationen sind am ehesten damit zu erklären, daß vom Abklemmen der Aorta bis zum Anschluß an die Perfusionsanlage keine Sauerstoffzufuhr möglich ist.

3.3.2.2.3. Sauerstoffverbrauch

Um Hinweise auf einen kontinuierlichen Sauerstoffverbrauch und indirekt damit auf die Konstanz der Organfunktion des perfundierten Gewebes zu erhalten (15), verglichen Grodsky (55, 88,90), Sussman (236), Zimmermann (257), Schäfer (227) und Bosboom (30) die Sauerstoffspannung im zu- und im abfließenden Perfusat. Sussman selbst stellte die Aussagekraft eines solchen Kriteriums in Frage, da die Langerhans'schen Inseln im Gesamtorgan quantitativ kaum ins Gewicht fallen. Es muß also letztlich offen bleiben, inwieweit die Inseln am berechneten Sauerstoffverbrauch tatsächlich teilhaben (236). Nicht zuletzt deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit darauf verzichtet, den Sauerstoffverbrauch der Organpräparation zu messen.

3.3.2.2.4. Perfusionsdruck

Ob die Höhe des Perfusionsdruckes als Kriterium für die Beurteilung der Integrität des Organs herangezogen werden kann, ist umstritten.

Sussman konnte beobachten, daß der Perfusionsdruck nach Durchströmung der Bauchspeicheldrüse über einen Zeitraum von 2 bis 3 Stunden als Folge einer Zunahme des Gefäßwiderstandes anstieg. Gleichzeitig nahm die Flußrate entsprechend ab. Sussman vertrat

aufgrund dieser Beobachtung die Auffassung, daß bei anhaltendem Druckanstieg über 70 mm Hg die Versuche wegen eventuell möglicher Organschäden abgebrochen werden sollten (236).

In den eigenen Versuchen wurde der Perfusionsdruck von 70 mm Hg nur selten überschritten. Ein direkter Vergleich mit dem von Sussman bei längeren Perfusionszeiten beobachteten Druckanstieg ist nicht möglich, da die ermittelten Flußraten (Tab. 5) wesentlich höher lagen als die von Sussman (2,0 bis 2,5 ml/min) mitgeteilten (236). Somit mußte auch der mittlere Perfusionsdruck zwangsläufig höher sein.

Grodsky schlug vor, die Perfusion erst dann abubrechen, wenn bei einer Flußrate von 10 - 12 ml/min ein Druck von etwa 120 mm Hg überschritten wird (105).

Ob die für die unterschiedlichen Flußraten angegebenen maximalen Druckwerte überhaupt ein brauchbares Kriterium für mögliche sekundäre Organschäden darstellen, muß derzeit noch offen bleiben.

3.4. Pankreasperfusionen mit Harnsäure

3.4.1. Versuchsbedingungen

Das Auswerten der Vorversuche war zugleich die Voraussetzung, anhand der nachfolgenden Experimente den Einfluß der Harnsäure auf das Verhalten der Insulinsekretion am isoliert perfundierten Rattenpankreas zu untersuchen.

3.4.1.1. Perfusatzusätze

Nach substratfreier Vorperfusion wurden die B-Zellen der isolierten Bauchspeicheldrüsen unter verschiedenen Bedingungen stimuliert. Für die einzelnen Versuchsserien wurden folgende Perfusatzusätze gewählt:

Serie 1:	Glukose	(100 mg/100 ml)	(n = 11)
Serie 2:	Glukose	(100 mg/100 ml)	
	+ Harnsäure	(12 mg/100 ml)	(n = 12)
Serie 3:	Glukose	(300 mg/100 ml)	(n = 12)
Serie 4:	Glukose	(300 mg/100 ml)	
	+ Harnsäure	(12 mg/100 ml)	(n = 11)

3.4.1.2. Gewicht der Versuchstiere

Das Gewicht der Versuchstiere ist in Tabelle 3 angegeben.

3.4.1.3. Sammelperioden

Im Verlaufe jeder Perfusion wurden 56 Fraktionen gesammelt, während der Vorperfusion

15 Fraktionen mit einer Laufzeit von jeweils 1 Minute ,

während der Hauptperfusion

- 20 Fraktionen mit einer Laufzeit von jeweils 1/2 Minute,
- 10 Fraktionen mit einer Laufzeit von jeweils 1 Minute,
- 11 Fraktionen mit einer Laufzeit von jeweils 2 Minuten.

Die Vorperfusion erstreckt sich also über einen Zeitraum von 15 Minuten, die Hauptperfusion über einen Zeitraum von 42 Minuten.

3.4.1.4. Einleiten der Hauptperfusion

Da das Perfusionssystem zwischen T-Stück und zuführender Kanüle ein Volumen von etwa 10 bis 15 ml enthielt, das bei einer Flußrate von 5 ml/min 2 bis 3 Minuten zum Durchlaufen benötigte, mußte der Dreiwegehahn A nach 13 Minuten auf "Rücklauf" und der Dreiwegehahn B auf "Kanüle" gestellt werden. Unter dieser Voraussetzung erreichte das Perfusat B nach der 15. bis 16. Minute das Pankreas. Die Vorperfusion war zu diesem Zeitpunkt beendet. Von da an wurde das endokrine Pankreas mit Glukose stimuliert bzw. dem zusätzlichen Einfluß der Harnsäure ausgesetzt.

3.4.1.5. Perfusionsdruck

Für jeden Versuch wurde aus jeweils 4 Einzelmessungen der mittlere Perfusionsdruck berechnet. Statistisch nachweisbare Unterschiede zwischen den Druckwerten der Serien 1 und 2 sowie der Serien 3 und 4 ergaben sich nicht (Tab. 4). Die während der verschiedenen Versuche beobachteten Druckschwankungen betrugen nur selten mehr als 15 mm Hg.

3.4.1.6. Effektive Flußrate

Für jeden Perfusionsversuch wurde aus den Volumina der gesammelten Fraktionen das mittlere pro Minute perfundierte Volumen berechnet. Die gefundenen Werte gehen aus der Tabelle 5 hervor.

Die mittleren effektiven Flußraten der Gruppen 1 und 2 unterschieden sich nicht. Die mittlere effektive Flußrate der Gruppe 4 war höher als die der Gruppe 3 ($p < 0,01$). Dies hatte jedoch keine Auswirkung auf die sezernierte Insulinmenge.

3.4.1.7. Volumenverlust durch Sekretion und Diffusion

Das während der Hauptperfusion über eine Sonde abgeleitete Magen-, Duodenal- und Pankreassekret wurde mit dem nach außen abgepreßten Perfusatanteil addiert. Die für alle Gruppen berechneten Werte des Verlustvolumens sind in Tabelle 6 angegeben.

Es zeigte sich, daß die für die Gruppen 1, 2 und 3 ermittelten Volumenverluste zu etwa 60 % aus Organsekret und zu etwa 40 % aus abdiffundiertem Perfusat bestanden. Der für die Gruppe 4 gefundene Anteil des Sekretes betrug 77 %, der des Perfusates 23 %. Die Verlustvolumina der Gruppen 1 und 2 unterschieden sich nicht signifikant. Das Verlustvolumen der Gruppe 4 war geringer als das der Gruppe 3 ($p < 0,01$). Dementsprechend hatten sich die Werte der mittleren effektiven Flußraten umgekehrt verhalten (vgl. Kap. 3.4.1.6.).

Die im Verlustvolumen der Gruppen 1 und 2 gemessenen Insulinkonzentrationen lagen unterhalb des Meßbereiches oder nur ausnahmsweise geringfügig darüber. In den Gruppen 3 und 4 betrug der in Stichproben gefundene Insulinanteil maximal 3 % des während der gesamten Hauptperfusion sezernierten Insulins.

3.4.2. Ergebnisse

3.4.2.1. Insulinsekretionsstudien

3.4.2.1.1. Versuchsserie I

Die B-Zellen-Stimulation mit einer Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml im Perfusionsmedium bewirkte lediglich eine eindeutige initiale Insulinfreisetzung (Abb. 34). Der Vorgang erstreckte sich über einen Zeitraum von minimal 6 und maximal 8 1/2 Minuten. Bei der Mehrzahl der Perfusionsversuche war die initiale Insulinfreisetzung bereits nach 6 bis 7 1/2 Minuten wieder beendet (Tab. 11). Das Sekretionsmaximum hielt 2 1/2 bis 3 Minuten an.

Die während der initialen Phase gefundenen mittleren Sekretionsraten (mI_I) zeigten zum Teil erhebliche Unterschiede. Die Werte schwankten zwischen 47,3 und 295,4 $\mu\text{E}/\text{min}$. Nur in einem Fall wurde der extrem niedrige Wert von 10,9 $\mu\text{E}/\text{min}$ gemessen (Tab. 11).

Eine zweite Sekretionsphase konnte bei der Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml im Perfusat nicht sicher nachgewiesen werden. Die nach Ablauf der initialen Insulinfreisetzung gefundenen Werte (mI_{II}) bewegten sich in basalen Sekretionsbereichen von nur wenigen $\mu\text{E}/\text{min}$ bis maximal 39,6 $\mu\text{E}/\text{min}$ (Tab. 11).

Die während der initialen Phase insgesamt sezernierte Hormonmenge (I_I) schwankte mit einer Ausnahme (92,4 μE) zwischen 331 und 1 920 μE . Die in der Folgezeit registrierten Werte (I_{II}) lagen mit einer Ausnahme (2,1 μE) zwischen 31,0 und 1 308 μE . Hieraus ergaben sich für die Gesamtdauer des Versuches sezer-

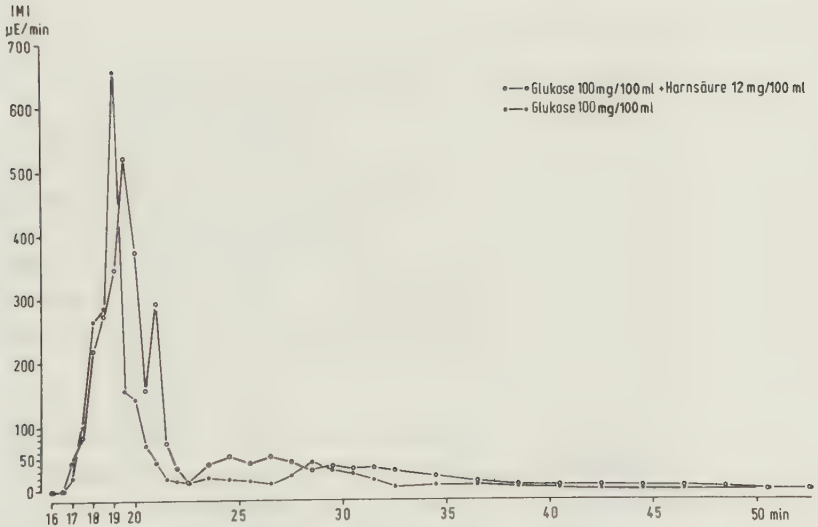


Abb. 34

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen
bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) und bei Stimulation
mit Glukose (100 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml)

nierte Insulinmengen (I_G) von 299 bis 3 228 μ E (Tab. 11 - Abb. 35).

In Tabelle 7 sowie in den Abbildungen 35 und 36 sind die Mittelwerte dieser Versuchsserie zusammenfassend dargestellt.

3.4.2.1.2. Versuchsserie II

Stimuliert wurde mit einer Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml. Die Konzentration der gleichzeitig zugesetzten Harnsäure betrug 12 mg/100 ml. Die beobachtete Insulinsekretion war quantitativ und qualitativ weitgehend mit der von Gruppe I identisch (Abb. 34). Die während der initialen Hormonfreisetzung beobachteten Sekretionsmaxima erstreckten sich über einen Zeitraum von 3 bis 4 Minuten. Die Gesamtdauer dieser Phase betrug in 9 Fällen 6 1/2 bis maximal 7 1/2 Minuten und in je einem Fall 5 1/2, 8 bzw. 10 Minuten (Tab. 12).

Die für die erste Phase berechneten mittleren Sekretionsraten (mI_I) lagen zwischen 29,5 und 242 μ E/min, nur in einem Versuch wurde der hohe Wert von 405 μ E/min erreicht (Tab. 12). Die im weiteren Versuchsablauf gefundenen mittleren Sekretionsraten (mI_{II}) lagen im basalen Bereich zwischen 0,4 und 35 μ E/min (Tab. 12).

Die gesamte Sekretionsleistung in der initialen Phase (I_I) betrug minimal 207, maximal 2 226 μ E. Für die restliche Dauer der Versuche wurden Werte zwischen 12,0 und 1 154 μ E ermittelt (I_{II}). Während des gesamten Versuchszeitraumes wurde eine Sekretionsleistung (I_G) von 1 021 bis 3 380 μ E erreicht. Einzige Ausnahme war ein Versuch mit nur 470 μ E (Tab. 12 - Abb. 35).

Die Mittelwerte dieser Versuchsserie sind der Tabelle 8 sowie den Abbildungen 35 und 36 zu entnehmen.

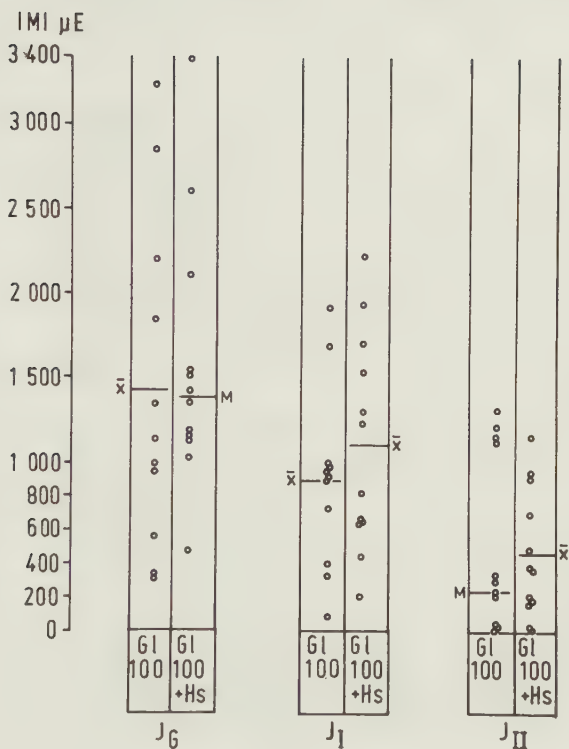


Abb. 35

Freigesetzte Insulinmenge (μE) isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen nach Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) (Gl 100 - $n = 11$) und nach Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml) (Gl 100 + Hs - $n = 12$)

- I_G : während der gesamten Hauptperfusion freigesetzte Insulinmenge
 I_I : während der ersten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge
 I_{II} : während der zweiten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

Angegeben sind die Einzelwerte und das arithmetische Mittel ($\bar{x}$) bzw. der Median (M).

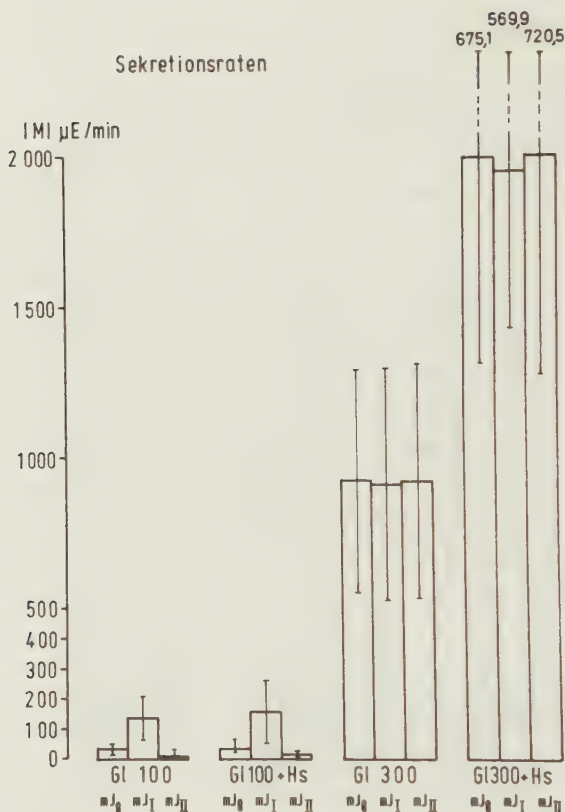


Abb. 36

Insulinsekretionsraten ($\mu\text{E}/\text{min}$) isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml - n = 11 und 300 mg/100 ml - n = 12) und bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml - n = 12 und 300 mg/100 ml - n = 11) + Harnsäure (12 mg/100 ml)

mI_G: mittlere Sekretionsrate während der gesamten Hauptperfusion

mI_I: mittlere Sekretionsrate während der ersten Sekretionsphase

mI_{II}: mittlere Sekretionsrate während der zweiten Sekretionsphase

Angegeben ist das arithmetische Mittel $\pm$ Standardabweichung bzw. der Median mit 1. (D_u) und 9. (D_o) Dezil für mI_{II}/Gl 1. und mI_G/Gl 100 + Hs.

Der statistische Vergleich der für die Serien I und II berechneten Sekretionsleistung ergab weder quantitative noch sekretionsdynamische Unterschiede.

3.4.2.1.3. Versuchsserie III

Die für die Versuchsserie III gewählte Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml bewirkte in jedem Falle eine stark ausgeprägte biphasische Insulinfreisetzung (Abb. 37). Die initiale Hormonsekretion erstreckte sich über einen Zeitraum von 5 1/2 bis 6 1/2 Minuten (Tab. 13), das Sekretionsmaximum dauerte 2 1/2 bis 4 Minuten an.

Die während der ersten Sekretionsphase gemessene mittlere Sekretionsrate (mI_I) betrug minimal 339, maximal 1 568 $\mu E/min$ (Tab. 13).

Bei allen Perfusionsversuchen kam es nach Abklingen der initialen Insulinfreisetzung zu einer deutlich erkennbaren zweiten Sekretionsphase, in je 4 Fällen mit steigender, mit gleichbleibender und mit fallender Tendenz bis zum Ende der Perfusion. Die mittleren Sekretionsraten dieser Phase (mI_{II}) lagen zwischen 417 und 1 538 $\mu E/min$ (Tab. 13).

Die Berechnung der Gesamtsekretion ergab für die erste Phase (I_I) Werte zwischen 2 203 und 8 864 μE , für die zweite Phase (I_{II}) Werte zwischen 13 965 und 52 494 μE . Die Gesamtsekretion beider Phasen (I_G) betrug minimal 18 566, maximal 61 165 μE (Tab. 13 - Abb. 38).

Die Mittelwerte dieser Versuchsserie gehen aus Tabelle 9 sowie aus den Abbildungen 36 und 38 hervor.

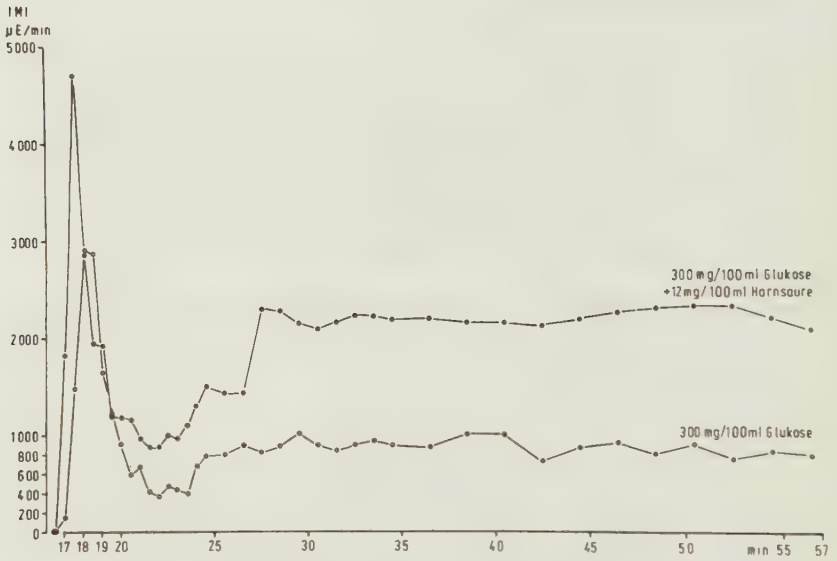


Abb. 37

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen
bei Stimulation mit Glukose (300 mg/100 ml) und bei Stimulation
mit Glukose (300 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml)

Im Vergleich zu den Versuchsserien I und II war die Insulinsekretion um ein vielfaches höher. Dies gilt nicht nur für die erste Sekretionsphase, sondern auch für die gesamte Dauer der Hauptperfusion.

3.4.2.1.4. Versuchsserie IV

Die in Versuchsserie IV gemessene Insulinsekretion, die bei einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml und einem Harnsäurespiegel von 12 mg/100 ml im Perfusat erreicht wurde, war quantitativ mit Abstand am stärksten ausgeprägt. Dies gilt sowohl für die erste als auch für die zweite Phase der Hormonfreisetzung (Abb. 36, 37). Die initiale Insulinsekretion war durch ein Maximum zwischen der 2. und 4. Minute gekennzeichnet. In 2 Fällen kam es nach 5 Minuten, in 8 Fällen nach 6 Minuten und in einem Fall nach 6 1/2 Minuten zu einem vorübergehenden Sekretionsminimum (Tab. 14).

Die für die initiale Phase berechnete mittlere Sekretionsrate (mI_I) betrug minimal 1 012, maximal 2 878 $\mu E/min$ (Tab. 14). Die mittlere Sekretionsrate der zweiten Phase (mI_{II}) lag zwischen 1 014 und 3 049 $\mu E/min$ (Tab. 14). Gegen Ende der Versuche zeigten sich in 6 Fällen gering zunehmende, in 4 Fällen konstant bleibende Sekretionsraten. In einem Fall war eine leicht fallende Tendenz zu beobachten.

Die Gesamtsekretion der ersten Phase (I_I) ergab Werte zwischen 6 070 und 17 266 μE , die Gesamtsekretion der zweiten Phase (I_{II}) Werte zwischen 34 473 und 100 603 μE . Die während beider Phasen sezernierte Hormonmenge (I_G) betrug minimal 41 430 μE , maximal 117 869 μE (Tab. 14 - Abb. 38). In Tabelle 10 sowie in den Abbildungen 36 und 38 sind die für

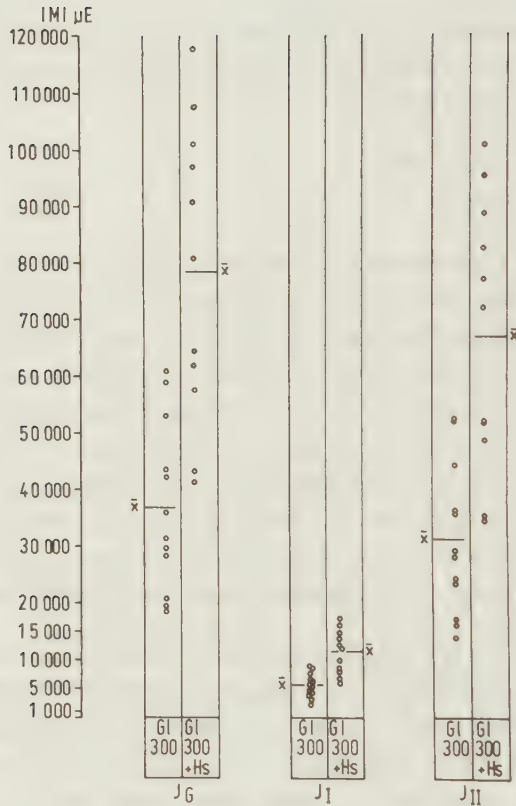


Abb. 38

Freigesetzte Insulinmenge (μE) isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen nach Stimulation mit Glukose (300 mg/100 ml) [Gl 300 - n = 12] sowie nach Stimulation mit Glukose (300 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml) [Gl 300 + Hs - n = 11]

I_G : während der gesamten Hauptperfusion freigesetzte Insulinmenge

I_I : während der ersten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

I_{II} : während der zweiten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

Angegeben sind jeweils die Einzelwerte und das arithmetische Mittel ($\bar{x}$).

diese Versuchsserie errechneten Mittelwerte zusammengestellt.

Die Insulinsekretion der Versuchsserie IV war gegenüber der Hormonfreisetzung der Versuchsserie III signifikant erhöht. In beiden Phasen betrug die Zunahme der Insulinfreisetzung mehr als 100 %, unabhängig davon, ob die absolute Menge des sezernierten Hormons (μE) oder seine Sekretionsrate ($\mu\text{E}/\text{min}$) zugrunde gelegt wurde (Tab. 15).

3.4.2.2. Elektronenoptische Studien

Die morphologische Struktur der B-Zelle ist charakterisiert durch die typische Granula-Population, die eine diffuse intrazytoplasmatische Verteilung zeigt. Die spezifischen Granula enthalten einen elektronendichten Kern, umgeben von einem weißen Hof und einer einfachen Vesikelmembran. Im Regelfall (nicht stimuliertes Pankreas nach 15 Minuten andauernder Vorperfusion) findet sich eine überwiegend gleichmäßige Verteilung dieser Granula, ohne daß Dichteunterschiede feststellbar sind (Abb. 39). Der Nachweis zahlreicher Golgikomplexe in den B-Zellen spricht für eine starke Aktivität. In einer Ausschnittsvergrößerung (Abb. 40) erkennt man eine deutliche Progranulabildung im Bereich dieser spezifischen Zellorganellen.

Nach Perfusion mit 300 mg/100 ml Glukose kommt es zu einer auch morphologisch faßbaren Entspeicherung der B-Zellen, kenntlich an einem zunehmenden Verschwinden der elektronendichten zentralen Kerne dieser Granula (Abb. 41). Dieser Befund wird in einer Ausschnittsvergrößerung dokumentiert (Abb. 42).

Nach Perfusion mit 300 mg/100 ml Glukose sowie Zusatz von

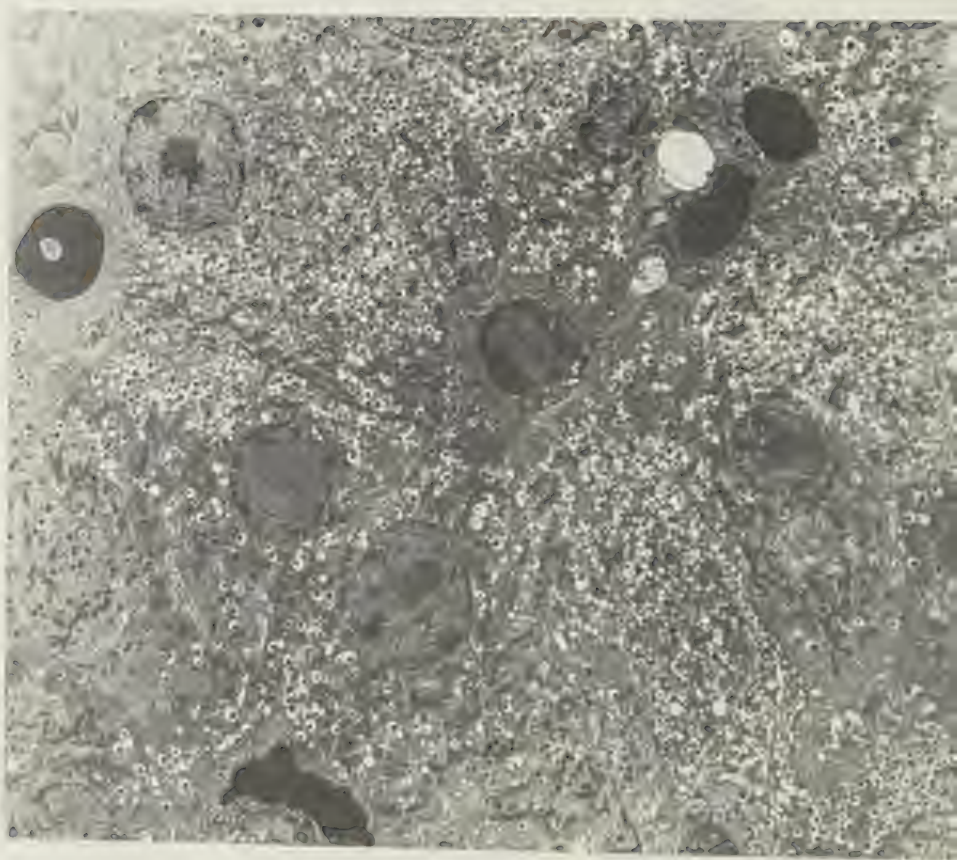


Abb. 91

Ausschnitt aus einer β -Zelle mit typischer Granulapopulation nach
Vorperfusion ohne Stimulation - Vergrößerung: $\times 3\,200$
Überwiegend dichte Insulin-Sekretionsgranula

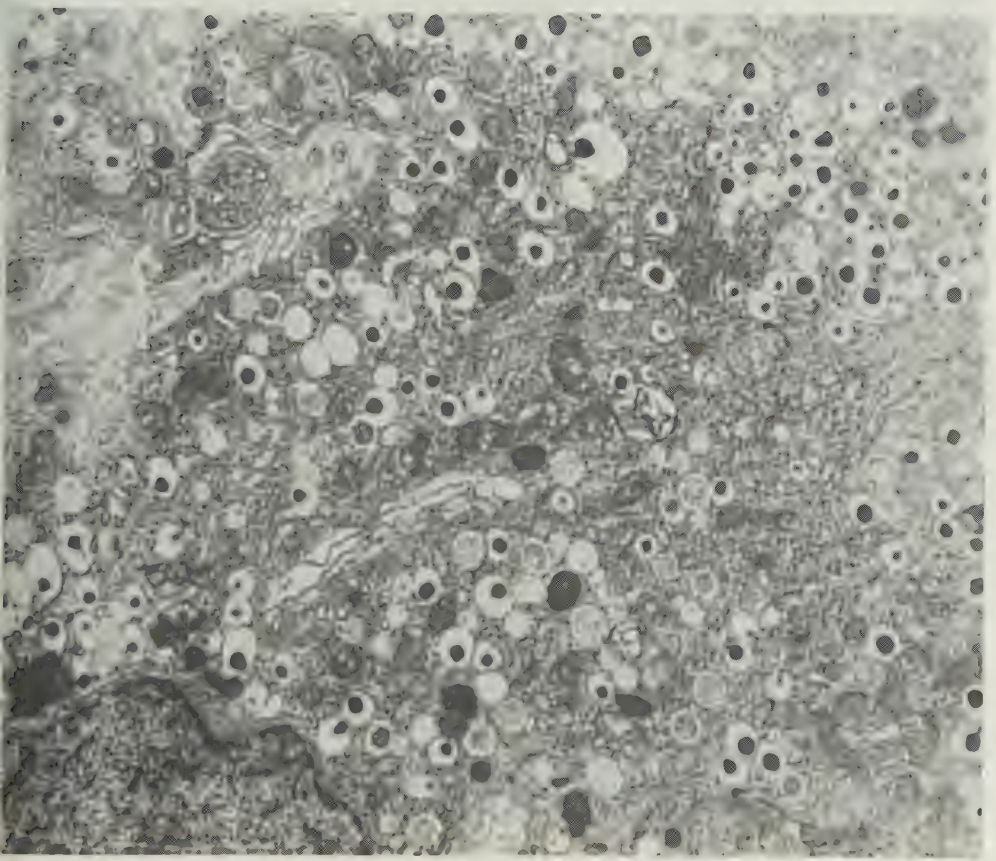


Abb. 40

Detallausschnitt aus einer B-Zelle nach Vorperfusion ohne Stimu-
lation - Vergrößerung: x 12 000

Intensive Progranula-Neubildung im Bereich des Golgi-Apparates,
kennlich an der abgestuften Grautönung des Vesikelinhaltes

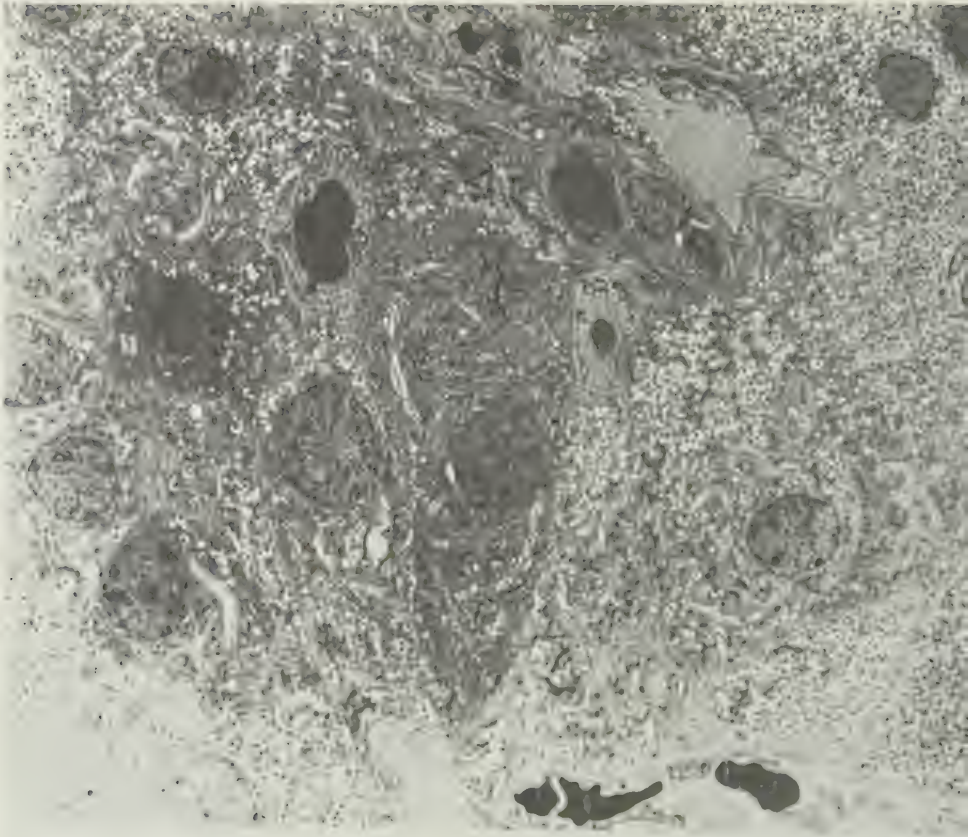


Abb. 41

Ausschnitt aus einer B-Zelle nach Stimulation (42 min) mit Glukose in einer Konzentration von 300 mg/100 ml - Vergrößerung: x 3 200

Beginnende Entleerung der Insulin-Sekretionsgranula. Zunahme der leeren Vesikel

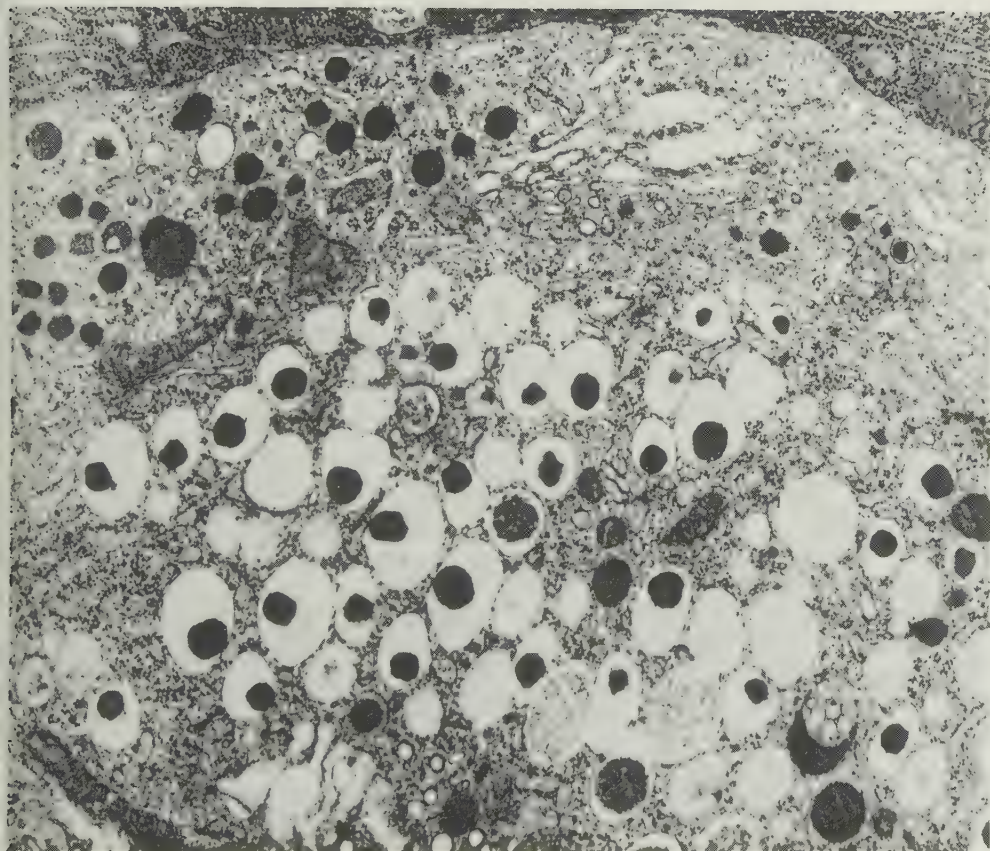


Abb. 42

Detailausschnitt aus einer B-Zelle nach Stimulation (42 min) mit
Glukose in einer Konzentration von 300 mg/100 ml - Vergrößerung:

x 15 800

Entleerte Sekretionsvesikel

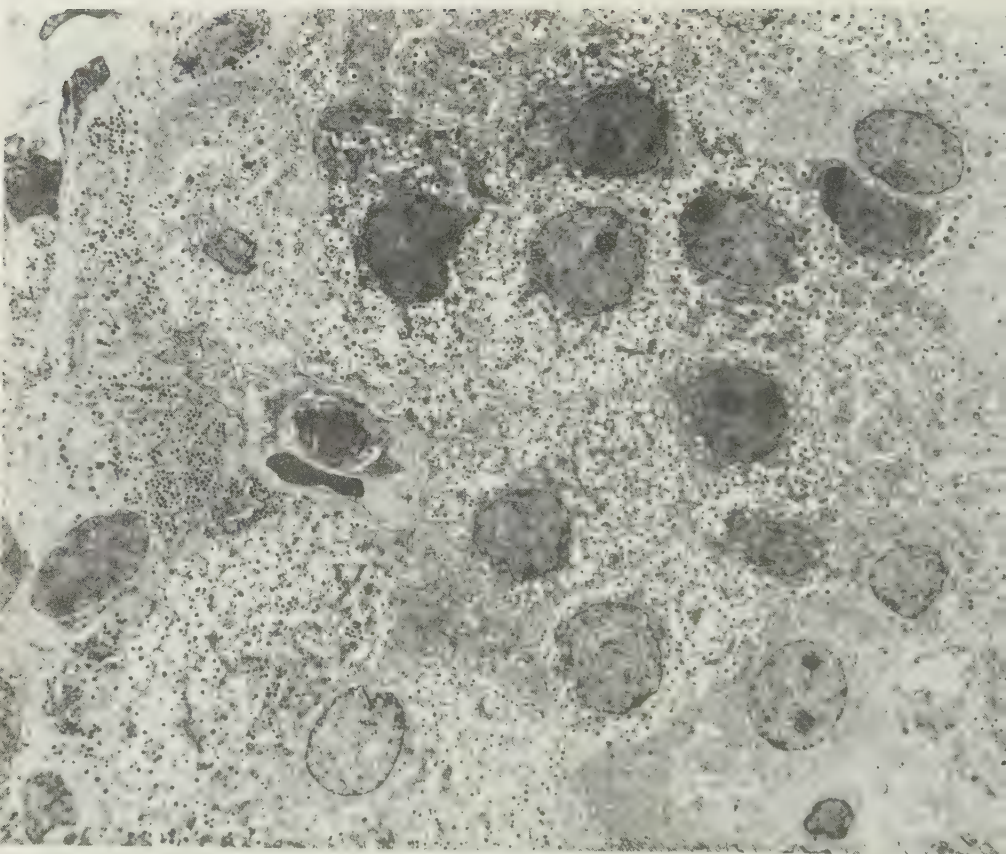


Abb. 43

Ausschnitt aus einer B-Zelle nach Stimulation (42 min) mit Glukose in einer Konzentration von 300 mg/100 ml in Gegenwart von Harnsäure in einer Konzentration von 12 mg/100 ml - Vergrößerung: x 3 200

Erhebliche Steigerung der Insulingranula-Entleerung

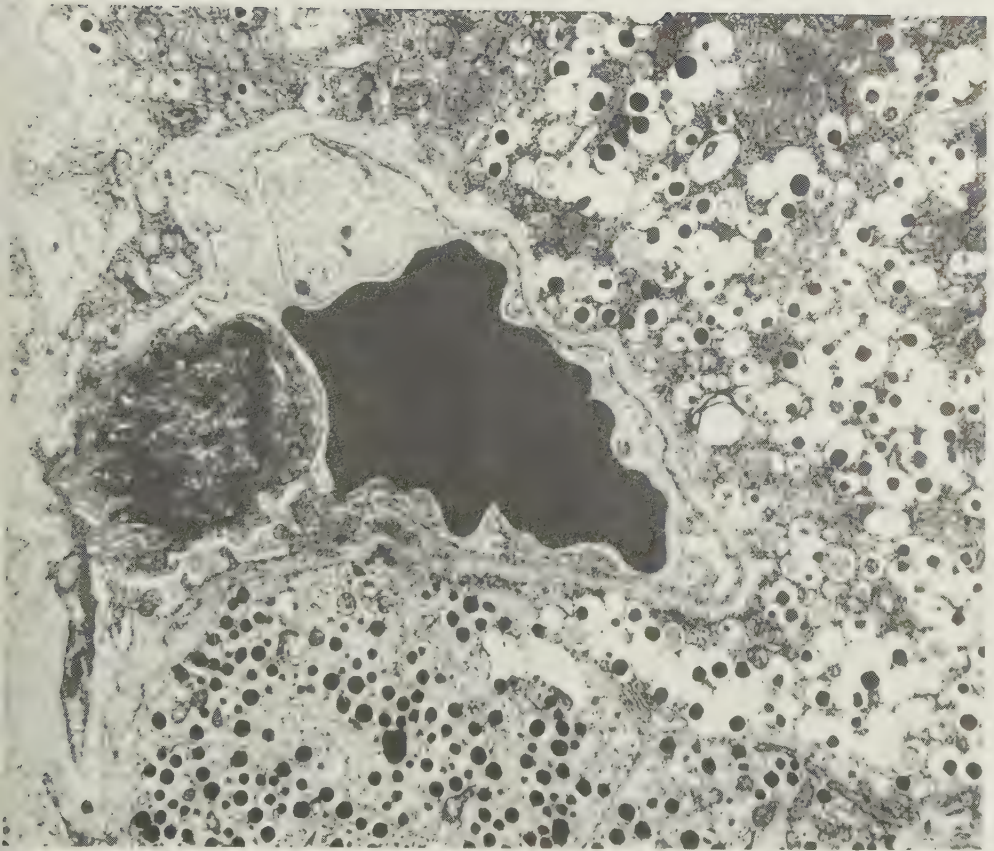


Abb. 44

Detailausschnitt aus einer B-Zelle nach Stimulation (42 min) mit Glukose in einer Konzentration von 300 mg/100 ml in Gegenwart von Harnsäure in einer Konzentration von 12 mg/100 ml - Vergrößerung: x 12 000

Zum Teil konfluierete, deutlich entleerte Vesikel im Bereich der Grenze der B-Zelle zu einer Kapillare und zu einer A-Zelle

12 mg/100 ml Harnsäure ist gegenüber den Vorbefunden eine erhebliche Steigerung der Degranulationsvorgänge in der B-Zelle festzustellen. Ein großer Teil der spezifischen Vesikel erscheint morphologisch entleert, d. h. ohne zentral nachweisbaren Kern (Abb. 43). Auch dieser Befund kommt in einer Ausschnittsvergrößerung noch deutlicher zur Darstellung (Abb. 44).

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß der maximale Stimulus für die morphologisch deutlich faßbare Entspeicherung der B-Zellen die Pankreasperfusion mit der Kombination aus Glukose (300 mg/100 ml) und Harnsäure (12 mg/100 ml) ist. Bei den Organen, die mit einer Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml im Perfusat mit und ohne Zusatz von Harnsäure durchströmt wurden, konnte zumindest in den vorliegenden Untersuchungen keine vergleichbare Reaktion beobachtet werden.

4. Diskussion

4.1. Methode

Um den Einfluß der Harnsäure auf die B-Zelle untersuchen zu können, wurde das Versuchsmodell der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse gewählt. Ein wesentlicher Vorteil dieser Technik gegenüber in vivo-Untersuchungen ist die Ausschaltung von Störgrößen, wie sie beispielsweise insulinantagonistisch wirksame Hormone oder Einflüsse von Seiten des Leberstoffwechsels darstellen (88). Darüber hinaus können alle Versuche unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden. Gegenüber der Inkubationstechnik hat die Methode den Vorteil, das Verhalten der Hormonfreisetzung nicht nur quantitativ sondern zugleich auch sekretionsdynamisch zu untersuchen. Ein weiterer Vorteil gegenüber der Inkubations- aber auch gegenüber der Perifusionstechnik besteht möglicherweise darin, daß das Perfusionsmedium die Langerhans'schen Inseln auf vaskulärem Wege erreicht (105 - vgl. Kap. 2.4.).

Wegen der geringen Löslichkeit der Harnsäure im Perfusionsmedium war es erforderlich, den Aufbau der Versuchsanlage zu modifizieren. Bei den herkömmlichen zumeist einkreisigen Perfusionssystemen wird dem Perfusat unmittelbar vor der zuführenden Kanüle über eine Infusionspumpe Glukose bzw. eine Testsubstanz in hochkonzentrierter, gelöster Form zugemischt (54,55,100,105,155,164,186,236). Hierdurch wird ein sofort einsetzender und steil verlaufender, jedoch unphysiologischer Anstieg der Wirkstoffkonzentration erreicht. Mit einem solchen System können Rechteckimpulse von wenigen Minuten Dauer erzeugt werden (54,96,99,105).

Für die Durchführung der Perfusionsversuche mit Harnsäure war es dagegen zweckmäßiger, eine zweikreisige Anlage aufzubauen (105 - vgl. Kap. 3.2.3.). Kennzeichnend für dieses System ist der beim Einleiten der Hauptperfusion allmähliche Anstieg der Wirkstoffkonzentration, der sich über eine Zeitspanne von 4 bis 7 Minuten erstreckt (Abb. 45,46). Für die vorgesehenen Versuche war diese Modifikation vor allem deshalb geeignet, weil es sonst nicht möglich gewesen wäre, die schlecht lösliche Harnsäure in der gewünschten Konzentration zuzuführen.

Die Reaktion der B-Zelle kann durch den Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme beeinflusst werden. Bosboom und Zweens hatten anhand von Perfusionsversuchen und auch anhand von in vivo-Experimenten nachgewiesen, daß die glukoseinduzierte Insulinfreisetzung durch 16- bis 48-stündiges Fasten erheblich reduziert werden kann (30). Entsprechende Beobachtungen liegen auch von Efendić (66), Fink (70), Fujita (75) und Wolters (253) vor. Daher wurde den Versuchstieren bis zu 90 Minuten vor Operationsbeginn die Nahrungsaufnahme ad libitum gewährt (186,236 - vgl. Kap. 3.2.1.1.).

Andere Autoren wie Fußgänger und Straub (77,155) sowie Grodsky und Curry (54,57,102) führten ihre Perfusionsversuche hingegen erst nach 15- bzw. 24-stündiger Nahrungskarenz durch. Bei diesem Vorgehen muß jedoch damit gerechnet werden, daß die Antwort der B-Zellen quantitativ vermindert ist.

Für die Vorperfusion, die der Stabilisierung der Organfunktion dient, wurde aufgrund der in den Vorversuchen gesammelten Erfahrung eine Zeitdauer von 15 Minuten festgelegt (vgl. Kap. 3.3.1.1.).

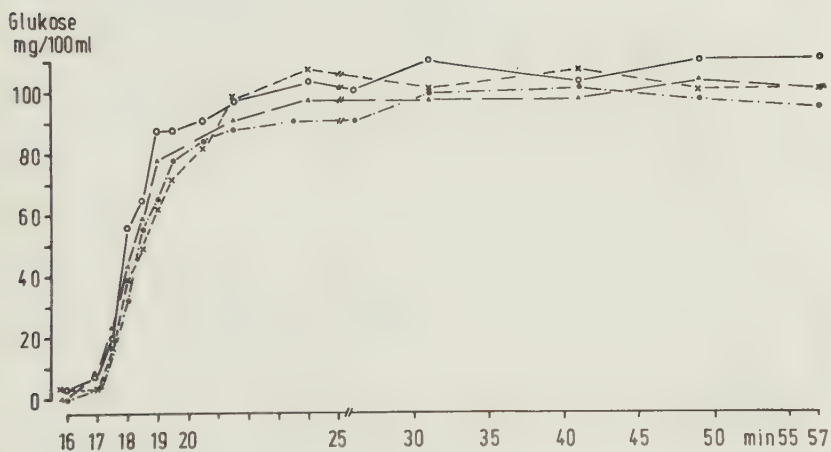


Abb. 45

Glukosekonzentrationen während der Hauptperfusion

Dargestellt sind 4 Meßreihen der Versuchsserien I und II.

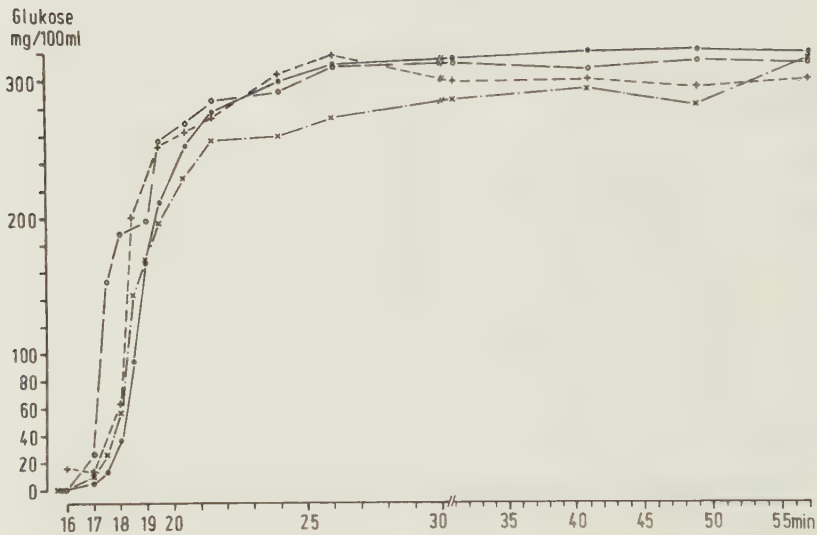


Abb. 46

Glukosekonzentrationen während der Hauptperfusion

Dargestellt sind 4 Meßreihen der Versuchsserien III und IV.

Die Angaben verschiedener Autoren über die Dauer dieser Versuchsperiode schwanken zwischen 10 und 30 Minuten (30, 55, 90, 100, 105). Zum Teil wurde diese Versuchsperiode nach einer einmaligen Passage des Perfusats (90, 105), zum Teil erst nach wiederholten Zirkulationen (30, 55) abgeschlossen.

Um die Funktionstüchtigkeit des Organpräparates möglichst lange zu gewährleisten, mußte versucht werden, die Blutzirkulation bis zur Entnahme der Bauchspeicheldrüse aufrecht zu erhalten. Hierzu war es erforderlich, die Organe aus nar-kotisierten, nicht aber aus toten Tieren zu gewinnen (105, 236). Um drohende Erstickungen der Versuchstiere durch Verlegung der Atemwege zu vermeiden, wurden die Ratten intubiert (vgl. Kap. 3. 2. 1. 3.).

Dem Vorschlag von Grodsky entsprechend (55, 88, 89, 102, 105) wurden Magen, proximales Duodenum und Milz für die Versuche an der Bauchspeicheldrüse belassen (vgl. Kap. 3. 2. 1. 3.). Auch Bosboom und Zweens hatten ein derartiges Organpräparat verwendet (30). Demgegenüber benutzten andere Autoren von Anhangsorganen völlig freipräparierte Bauchspeicheldrüsen (76, 77, 155, 165, 186, 236). Mitunter wurde auch das Duodenum belassen (236). Eindeutige Vorzüge gegenüber der von Grodsky angegebenen Technik haben diese Präparationen nicht. Der hierzu erforderliche Zeitaufwand ist aber größer. Bislang gibt es keine Hinweise, daß die Zuverlässigkeit der Versuchsergebnisse durch das völlige Freipräparieren der Bauchspeicheldrüse verbessert werden kann (105).

Um eine Andauung des Organs durch exokrine Enzymaktivitäten zu vermeiden, wurden Oesophagusstumpf und distales Ende des Duodenums abgebunden und das Sekret über eine fest in die Magenwand eingebundene Sonde abgeleitet (vgl. Kap. 3. 2. 4. 2.).

Ein vergleichbares Vorgehen wurde auch von Grodsky gewählt (105). Sussman dagegen sammelte das exokrine Pankreassekret über eine in den Gallengang eingebundene Kanüle (236).

Während der Perfusion wurden die isolierten Organe und die Perfusionslösung auf eine Temperatur von 37°C erwärmt (36, 90, 236 - vgl. Kap. 3.2.4.2.). Die Temperatur von 37°C ist vor allem deshalb erforderlich, weil die Insulinsekretion bei niedrigeren Temperaturen gehemmt wird (56). Laube und Fußgänger (76, 155) und mitunter auch Grodsky (105) erwärmten die Perfusionslösung sogar auf eine Temperatur von 38°C (Tab. 1).

Die Literaturangaben über den gemessenen Perfusionsdruck schwanken zwischen 20 und 100 mm Hg (30, 54, 76, 135, 154, 155, 236). Die Höhe des Perfusionsdruckes hängt von der jeweils gewählten Flußrate ab, die von den meisten Autoren mit 2,0 bis 2,5 ml/min angegeben wird (76, 165, 186, 236 - Tab. 1). Höhere Flußraten (30, 54, 105, 158) gehen auch mit insgesamt höheren Druckwerten einher. Die von Grodsky mit 10 bis 12 ml/min zur besseren Sauerstoffversorgung des Organs gewählten Flußraten (55, 105) wurden von Bosboom und Zweens wegen häufig vorkommender Gefäßperforationen abgelehnt (30).

Möglicherweise erleichtern die an der Bauchspeicheldrüse verbliebenen Organe (30, 55, 88, 89, 102) durch Erhöhung des Gefäß-Gesamtquerschnittes die Durchströmung des Organblockes. Auf der anderen Seite muß bei einer solchen Versuchsanordnung, als Folge einer eventuell auftretenden Kompression der Gefäßlumina, mit einem etwas höheren Perfusionsdruck gerechnet werden. Der bei den hier durchgeführten Untersuchungen gemessene Perfusionsdruck betrug bei einer Flußrate von 5 ml/min im Mittel 65 mm Hg, er war also mit dem von anderen Autoren angegebenen vergleichbar (30, 76, 155, 236).

Charakteristisch für die beschriebene Perfusionsanlage ist der allmähliche Anstieg der Wirkstoffkonzentration beim Einleiten der Hauptperfusion (Abb. 45, 46), der einen Zeitraum von 4 bis 7 Minuten benötigt. Ursache für diesen Ablauf ist das Durchmischen von Perfusat A und Perfusat B nach Umstellen der beiden Dreiwegehähne. Die initiale Phase der Insulinsekretion wird also bereits durch eine niedrigere Wirkstoffkonzentration als durch die im Perfusat B enthaltene induziert, da der anfängliche Gipfel der Hormonfreisetzung zum Teil in die Anstiegsphase der Wirkstoffkonzentration fällt (Abb. 25). Mit der von Bosboom und Zweens gewählten Versuchsanlage wird die endgültige Substratkonzentration nach 4 bis 5 Minuten erreicht (30).

Bei der Durchführung der Versuche zeigte sich, daß das von der Schlauchpumpe beförderte Volumen während der einzelnen Experimente nicht immer konstant blieb. Als wesentliche Ursachen kommen eine relativ zu geringe Elastizität des verwendeten Schlauchmaterials und eine Drehzahländerung des Elektromotors nach längerer Laufzeit in Betracht (238). Insgesamt waren die Schwankungen der Flußraten nicht größer als einige Zehntel ml/min.

Da während der Organpassage ein Teil der Perfusionslösung "verlorengeht", ist das von der Pumpe pro Zeiteinheit geförderte Volumen mit der effektiven Flußrate, d. h. mit dem pro Zeiteinheit nach Organpassage aufgefangenen Volumen, nicht identisch. Der Volumenverlust setzt sich einerseits aus dem über die Magensonde abgeleiteten exokrinen Pankreassekret, Magen- und Duodenalsaft, andererseits aus dem nach außen abgepreßten bzw. durch undichte Stellen ausgetretenen Perfusat zusammen. Es läßt sich also bei solchen Versuchsanord-

nungen nicht vermeiden, daß sich die mittlere effektive Flußrate, d. h. das durchschnittlich pro Minute nach Organpassage gesammelte Perfusat, von Versuch zu Versuch ein wenig ändert. Aus diesen Gründen wurden die mittleren effektiven Flußraten der Versuchsserien I und II sowie die der Versuchsserien III und IV verglichen (vgl. Kap. 3.4.1.6.). Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab sich allein beim Vergleich der Gruppen III und IV ($p < 0,01$). Die in Versuchsserie IV um 0,71 ml/min höhere mittlere effektive Flußrate ist jedoch nicht gleichbedeutend mit einem stärkeren Sekretionsreiz für die B-Zelle. Die im Vergleich zur Versuchsserie III um mehr als 100 % höhere Insulinsekretion der Versuchsserie IV (Tab. 15) kann also keineswegs auf die geringe Steigerung der effektiven Flußrate bezogen werden. Burr und Mitarbeiter konnten feststellen, daß die Insulinsekretion bei einer Erhöhung der Flußrate von 1,3 auf 2,5 ml/min weder quantitativ noch qualitativ verändert wird (36). Grodsky und Mitarbeiter, die die Flußrate spontan von 10 auf 5 ml/min herabsetzten, die stimulierenden Glukosekonzentrationen aber beibehielten, konnten zeigen, daß die um 50 % verminderte Flußrate während einer Beobachtungsdauer von 25 Minuten zu keiner Verminderung der Insulinsekretion führte (94).

Entsprechend der geringeren effektiven Flußrate wurde im Vergleich zur Versuchsserie IV in Versuchsserie III ein größeres Verlustvolumen gemessen. Eine quantitativ bedeutsame Auswirkung auf die Versuchsergebnisse lag nicht vor, da in diesem Volumenanteil nicht mehr als 3 % des insgesamt sezernierten Insulins enthalten waren (vgl. Kap. 3.4.1.7.).

Die Harnsäurekonzentration, die an den B-Zellen wirksam werden konnte, wurde im Anschluß an die Organpassage durch enzymatische Messungen im Perfusat überprüft. Da bei der Filtration des Perfusats in einzelnen Fällen ungelöste Harnsäurekristalle entfernt

wurden, war dieses Vorgehen erforderlich. Zudem konnte ein geringes Auskristallisieren der Harnsäure im Perfusionssystem nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.

Für die Beurteilung der Integrität des Inselorganes wurden sowohl funktionelle als auch morphologische Kriterien herangezogen.

Der Nachweis der morphologischen Integrität der Langerhans'schen Inseln und des exokrinen Pankreas konnte anhand einzelner Organpräparationen erbracht werden, die im Anschluß an die Perfusion licht- bzw. elektronenmikroskopisch untersucht wurden (vgl. Kap. 3.3.2.1.).

Die histologischen Schnittpräparate zeigten lediglich im Bereich der Bindegewebsstrukturen die nach Angaben von Grodsky (105) bei Perfusionen nicht vermeidbaren Ödembildungen in unterschiedlicher Ausprägung. Nekrosen oder andere Parenchymschäden konnten hingegen nicht nachgewiesen werden. Dies gilt sowohl für die endokrinen wie auch für die exokrinen Zellverbände (Abb. 28 bis 32).

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen haben gezeigt, daß es sich bei dem untersuchten Organmaterial um morphologisch intakte Zellverbände handelt (Abb. 39 bis 44). Der elektronenoptische Nachweis der Integrität der Inselzellen wurde von Grodsky als wesentliche Voraussetzung für die zuverlässige Interpretation von Perfusionsversuchen gefordert (105). Den Untersuchungen von Lee und Mitarbeitern ist zu entnehmen, daß die Zellstruktur auch bei einer Perfusionsdauer von 75 Minuten erhalten bleibt (158).

Die funktionelle Integrität konnte nicht nur am sofort einsetzenden Anstieg der Insulinsekretion nach Beginn der Glukosestimulation, sondern auch am regelmäßig nachweisbaren Zweiphasenverlauf belegt werden (55, 105, 236). Als weiterer Hinweis auf die funktionelle Integrität wurde von Curry das spontane Sistieren der Insulinsekre-

tion nach Absetzen des Glukosestimulus gewertet (55). Der in einem eigenen Versuch bei kontinuierlicher Verminderung der stimulierenden Glukosekonzentration beobachtete simultane Abfall der Insulinsekretion ist hiermit vergleichbar (vgl. Kap. 3.3.2.2.1.).

4.2. Ergebnisse

Zahlreiche Untersuchungen weisen darauf hin, daß die Insulinsekretion auch dem Einfluß des Adenylzyklase-cAMP-Phosphodiesterase-Systems unterliegt (vgl. Kap. 2.3.2.). Von mehreren Arbeitsgruppen konnte gezeigt werden, daß die Freisetzung des Hormons unter Einwirkung von Methylxanthinen zunimmt (2,8,37,74,151,169,202,247,249,254). Die zumeist an isolierten Inseln sowie an Pankreasstückchen durchgeführten Inkubationsversuche und die am isoliert perfundierten Rattenpankreas erzielten Versuchsergebnisse berechtigen zu der Annahme, daß diese Substanzen über eine Hemmung der cAMP-Phosphodiesterase eine Zunahme des zellulären cAMP bewirken (31,85,169,202,203,226,246). Dieser Anstieg wird - ebenso wie die Insulinsekretion - durch Hormone wie Glukagon, Pankreozymin, vermutlich auch Sekretin, ACTH und STH verstärkt (36,77,145,157,169,177,202,216,221,246), durch Katecholamine jedoch über eine Erregung der Alpha-Rezeptoren gehemmt (168,173,202,246). Die Zunahme des cAMP führt zu einer Konzentrationserhöhung des intrazellulären ionisierten Calciums, das sehr wahrscheinlich eine Kontraktion der Mikrotubuli auslöst und somit die Insulin enthaltenden Granula zur Emiozytose bringt (34,146,174,177).

Die für Methylxanthine nachgewiesene sekretionsfördernde Wirkung (2,8,37,74,151,169,202,247,249,254) legte es nahe, die Insulinfreisetzung auch unter dem Einfluß der strukturverwandten Harnsäure (Abb. 6), dem Endprodukt des Purinstoffwechsels, zu untersuchen.

Um prüfen zu können, ob die Insulinsekretion durch Harnsäure beeinflusst wird, war es erforderlich, Stimulationsversuche mit und ohne Harnsäurezusatz durchzuführen. Hierzu wurden die für solche Fragestellungen allgemein üblichen Glukosezusätze von 100 und

300 mg/100 ml Perfusat gewählt. Die Konzentration der Harnsäure betrug 12 mg/100 ml im Perfusat. Bei der Wahl dieser Konzentration mußte berücksichtigt werden, daß im Falle einer B-Zellen-stimulierenden Wirkung einerseits ein ausreichend wirksamer Reiz erzielt wird, andererseits das Löslichkeitsmaximum von Harnsäure nicht überschritten wird.

Die Ergebnisse der Perfusionsversuche (vgl. Kap. 3.4.2.1.) weisen darauf hin, daß die Insulinsekretion bei einer Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml durch den Zusatz von Harnsäure nicht gesteigert werden kann. Demgegenüber bewirkt der Harnsäurezusatz bei Glukosekonzentrationen von 300 mg/100 ml im Perfusat eine Steigerung der Insulinsekretion um mehr als 100 % (Tab. 15).

Beim Vergleich der Versuchsserien I (100 mg/100 ml Glukose) und II (100 mg/100 ml Glukose + 12 mg/100 ml Harnsäure) wird deutlich, daß Harnsäure weder die initiale noch die nachfolgende, in basalen Bereichen liegende Insulinsekretion beeinflußt (Tab. 7,8 - Abb. 34,35,36). Demnach kann angenommen werden, daß Harnsäure per se keine insulinstimulierende Wirkung aufweist. Zu dieser Annahme berechtigen Inkubationsversuche mit glukosepotenzierenden Wirkstoffen wie Theophyllin, Coffein und cAMP (177). Auf Untersuchungen mit niedrigeren Glukosekonzentrationen konnte daher verzichtet werden.

Den Ergebnissen der Versuchsserien III (300 mg/100 ml Glukose) und IV (300 mg/100 ml Glukose + 12 mg/100 ml Harnsäure) ist zu entnehmen, daß Harnsäure die mit Glukose annähernd maximal stimulierte Insulinsekretion weiter zu steigern vermag. Dies gilt nicht nur für die erste, sondern auch für die zweite Phase der Hormonfreisetzung (Tab. 9,10,15 - Abb. 36,37,38).

Die Ergebnisse der Sekretionsstudien konnten durch elektronenoptische Untersuchungen morphologisch belegt werden. Hierbei zeigte

sich, daß mit der Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml im Perfusat und gleichzeitig zugesetzter Harnsäure (12 mg/100 ml) eine maximale Entspeicherung der B-Zellen möglich ist (vgl. Kap. 3.4.2.2. - Abb. 39 bis 44). Da lediglich die durch hohe Glukosekonzentrationen induzierte Insulinfreisetzung durch den Zusatz von Harnsäure weiter gesteigert werden kann, muß dieser Purinkörper den von Malaisse angegebenen Substanzen mit glukosepotenzierender Wirkung zugeordnet werden. Der gleiche Effekt wird den Methylxanthinen Theophyllin und Coffein, dem Peptidhormon Glukagon und dem Dibutyryl-cAMP zugeschrieben (169,177). Die Untersuchungen von Malaisse hatten ergeben, daß der potenzierende Effekt dieser Substanzen erst bei Glukosekonzentrationen von mehr als 100 mg/100 ml nachweisbar wird (169,177 - Abb. 5). Demgegenüber werden Substanzen, die ihre stärkste Wirkung auf die B-Zelle in Abwesenheit von Glukose entfalten, den glukosesimulierenden Stoffen zugeordnet (177 - Abb. 4 - vgl. Kap. 2.2.).

Da die mit Glukose (300 mg/100 ml) annähernd maximal stimulierte Insulinsekretion in ihren beiden Phasen durch Harnsäure mit der gleichen Effektivität gesteigert wird, wäre es denkbar, daß ähnliche Wirkungsmechanismen zugrunde liegen. Detaillierte Aussagen über den Vorgang der glukosestimulierten und durch Harnsäure potenzierten Insulinfreisetzung sind mit dem angewandten Versuchsmodell nicht möglich.

Prinzipiell könnte die von Malaisse für andere glukosepotenzierende Wirkstoffe postulierte Arbeitshypothese (174,177 - vgl. Kap. 2.3.2. und 2.3.3.) auch für die Harnsäure zutreffen. Hier-
nach käme es durch Hemmung der cAMP-Phosphodiesterase zu einem intrazellulären Anstieg von zyklischem AMP, das dann über eine intrazelluläre Verschiebung der Calciumionen und

nachfolgende Aktivierung des kontraktilen mikrotubulären-mikrofilamentösen Systems eine Insulinfreisetzung bewirkt. Da das intrazellulär verschobene Calcium in Abwesenheit von Glukose bzw. bei sehr niedrigen Glukosekonzentrationen, die selbst keine oder nur eine sehr geringe Insulinsekretion hervorrufen, aus der B-Zelle abwandert, muß der potenzierende Effekt der Harnsäure bei Glukosekonzentrationen von 100 mg/100 ml und darunter ausbleiben. Höhere Glukosekonzentrationen dagegen verhindern einen Calciumtransfer durch die B-Zellmembran. Hierdurch könnte eine sehr wesentliche Voraussetzung für die glukosepotenzierende Wirkung der Harnsäure gegeben sein.

Daß Harnsäure ihre Wirkung über eine erhöhte Ansprechbarkeit der B-Zellen auf den Glukosereiz entfaltet, kann weitgehend ausgeschlossen werden. Bei einer solchen Voraussetzung hätte man erwarten müssen, daß Harnsäure in Gegenwart einer Glukosekonzentration von 100 mg/100 ml im Perfusat zu einem signifikanten Anstieg der Insulinsekretion führt. Außerdem hätte man hierbei unter Berücksichtigung sekretionsdynamischer Merkmale einen zweigipfligen Sekretionsverlauf erwarten können. Andererseits hätte sich in Gegenwart einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml eine nur noch geringe Steigerung der Insulinsekretion zeigen dürfen, zumal es bei weiterer Glukosezugabe zum Medium allenfalls zu einer vergleichsweise geringen Mehrsekretion (99, 100, 101), nicht aber zu einer Steigerung der Hormonfreisetzung um mehr als 100 % kommen kann.

Die Zunahme der Hormonfreisetzung in der zweiten Phase könnte unter Berücksichtigung des von Grodsky konzipierten "Two-compartmental model" der Insulinsekretion (97, 98, 100, 101 - vgl. Kap. 2.1.2.3.) auch damit erklärt werden, daß die Harnsäure durch eine Konzentrationserhöhung des vom Autor postulierten Potentia-tors eine rasche Bereitstellung von präformiertem oder neusynthe-

tisiertem Insulin bewirkt. Die gleichzeitig durch Harnsäure potenzierte erste Sekretionsphase kann hiermit jedoch nicht erklärt werden. Zudem hätte sich im Falle einer Anhebung der Potentia-torkonzentration auch bei den Versuchen mit Glukosekonzentratio-nen von 100 mg/100 ml eine deutliche Steigerung der Insulinsekre-tion in der zweiten Phase zeigen müssen.

Die harnsäurespezifische Wirkung auf die Insulinsekretion könnte auch mit der Annahme eines substratbezogenen Rezeptorsystems und einer nachfolgenden, bislang unbekannten Trigger-Reaktion erklärt werden.

Eine Reihe von weiteren Experimenten wäre geeignet, die Wir-kung der Harnsäure auf die glukosestimulierte Insulinsekretion in ihren Detailmechanismen zu analysieren. Anhand von Inkubations-versuchen mit isolierten Inselzellen könnten Fragen der Dosis-Wirkungs-Beziehung untersucht werden. Eine solche Versuchs-anordnung hätte zugleich den Vorteil, den Vorgang der Insulinse-kretion ohne den möglichen Einfluß exokriner Organanteile zu prü-fen.

Ob die Wirkung der Harnsäure allein an die Anwesenheit von Glu-kose gebunden oder auch in Gegenwart eines Glukosemetaboliten, wie z.B. Citrat oder Pyruvat, nachweisbar ist, könnte mit Hilfe von Inkubations- und Perfusionsversuchen geklärt werden.

Weiteren Experimenten müßte vorbehalten bleiben, ob auch struktur-verwandte Vorstufen der Harnsäure, wie beispielsweise Xanthin (Abb. 6), einen potenzierenden Effekt auf die glukosestimulierte Insulinsekretion besitzen. Ein wesentliches Ziel solcher Studien könnte die Suche nach dem wirksamen Strukturanteil dieser Mole-küle sein.

TEIL III

5. Beziehungen zwischen Störungen des Harnsäure- und des Glukosestoffwechsels

Bereits im Jahre 1768 berichtete der Engländer Dr. Robert Whytt über einen Patienten, der sowohl an Arthritis urica als auch an Diabetes mellitus erkrankt gewesen sein soll (252). Auch Cantani (42) und Grube (107) beobachteten gegen Ende des vorigen Jahrhunderts klinisch relevante Zusammenhänge zwischen Störungen des Harnsäure- und Glukosestoffwechsels. Inzwischen konnten zahlreiche Arbeitsgruppen nachweisen, daß Gicht sehr häufig von Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels begleitet wird, der manifeste Diabetes mellitus hingegen nur selten mit Gicht oder Hyperurikämie einhergeht.

5.1. Diabetesmorbidity bei Gicht

Verschiedenen Literaturangaben aus der Zeit vor 1962 ist zu entnehmen, daß Gichtkranke in einer Häufigkeit von 3,4 bis 8,0 % zugleich an Diabetes mellitus erkrankt sind (13,18,140). Neueren Untersuchungen zufolge tritt bei Gichtkranken in 8 bis 23 % der Fälle eine manifeste Zuckerkrankheit und in etwa 25 bis 60 % ein diabetisches Vorstadium auf (22,59,110,127,138,194,195,242,251). Bei nicht bekannten Störungen des Harnsäurestoffwechsels kommt die Zuckerkrankheit dagegen nur in einer Häufigkeit von 1,3 (Zit. n. 196) bis 1,7 % (13) vor.

5.2. Gichtmorbidity bei Diabetes mellitus

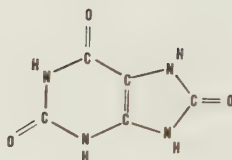
Die Gichtmorbidity bei Diabetikern ist offensichtlich nicht höher als in der Durchschnittsbevölkerung (114). Obwohl Cantani 1877 (42), Grube 1895 (107) und von Noorden 1910 (208) anhand nur

weniger Patienten mit Diabetes mellitus eine gleichzeitige Gichtmanifestation in 3,6 bis 9,0 % der Fälle beobachteten und Rabinowitch 1928 sogar von einer vierfach höheren Gicht-rate bei Diabetikern sprach (220), blieben die Berichte über ein bei Zuckerkranken gehäuftes Auftreten von Gicht in der Folgezeit aus. Joslin fand 1952 unter 1 500 Patienten mit Diabetes mellitus lediglich einen, der zugleich an Gicht erkrankt war (136). Whitehouse und Cleary, die bei ihren Diabetikern nur 1,0 bzw. 1,6 % Gichtkranke fanden, vertraten sogar die Auffassung, daß ein Auftreten der Gicht bei Diabetes mellitus ungewöhnlich sei (251). Andere Autoren gaben die Häufigkeit von Gicht bei Diabetikern mit 0,8, 1,8 und 2,1 % an (16,18, 231). Die durchaus vergleichbare Gichtrate in der Normalbevölkerung liegt nach einer Aufstellung von Beckett zwischen 0,1 und 1,0 % (16), nach Angaben von Hasslacher bei 1,3 % (114).

5.3. Harnsäure - eine diabetogene Substanz?

Da die überwiegende Mehrzahl der Autoren der Meinung ist, daß bei Gichtpatienten wesentlich häufiger diabetische Stoffwechselstörungen auftreten als umgekehrt, drängt sich die Frage auf, ob der Harnsäure möglicherweise eine diabetogene Wirkung (16,62,251) zugeschrieben werden kann. Ein solcher hypothetischer Zusammenhang ist deshalb von Interesse, da Harnsäure eine gewisse chemische Ähnlichkeit mit Alloxan hat (Abb. 47), einer Substanz, unter deren Einwirkung B-Zellnekrosen auftreten (63,64). Daher wurde auch vermutet, daß Harnsäure nach Umwandlung in Alloxan für die Entstehung diabetischer Stoffwechselstörungen verantwortlich sein könnte (51, 64,84).

HARNSÄURE



ALLOXAN

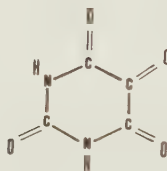


Abb. 47

Strukturformeln von Harnsäure und Alloxan

1948 und 1950 berichtete Griffiths über die Erzeugung passagerer Hyperglykämien durch hoch dosierte Harnsäureapplikationen (1 g/kg Körpergewicht i. p.) bei Kaninchen, deren Blutglutathionspiegel durch methionin- und cysteinarme Nahrung gesenkt worden war (83,84). Für die diabetogene Wirkung der Harnsäure, vielleicht auch für die chemische Umwandlung der Harnsäure in Alloxan oder einen ähnlich konfigurierten Metaboliten wäre demnach ein Mangel an Sulfhydryl-Gruppen notwendig gewesen. Die Untersuchungsergebnisse von Griffiths konnten jedoch weder von Collins-Williams und Bailey an Kaninchen (49) noch von Grunert und Phillips an Ratten (108) bestätigt werden. Beide Arbeitsgruppen hatten vergleichbare Versuchsbedingungen gewählt. Collins-Williams und Bailey wiesen darauf hin, daß die diabetogene Wirkung der Harnsäure, falls sie unter den genannten Versuchsbedingungen überhaupt bestehe, allenfalls sehr schwach sein könne (49). Grunert und Phillips schlossen eine diabetogene Wirkung der Harnsäure aus (108). Anhand von in vitro-Versuchen mit Sulfhydryl-Blockern sowie mit Leberhomogenaten von Ratten, die methioninarm ernährt waren, kamen sie zu der Überzeugung, daß Harnsäure nicht in Alloxan umgewandelt werde (109).

Gegen eine diabetogene Wirkung der Harnsäure spricht auch die Beobachtung von Martinez, der den alloxaninduzierten Diabetes mit Harnsäure bessern konnte (187). Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von Lacy (148) und von Tomita (243), daß die mit Harnsäure chemisch eng verwandten Purinkörper Coffein und Theophyllin die isolierte Insel vor der Alloxanwirkung schützen.

Die eigenen am isoliert perfundierten Rattenpankreas durchgeführten Versuche weisen sogar darauf hin, daß die glukoseinduzierte Insulinsekretion unter dem Einfluß von Harnsäure potenziert

wird. Ein diabetogener Effekt der Harnsäure ist aufgrund dieser Ergebnisse unwahrscheinlich. Darüber hinaus konnte anhand der licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Langerhans'schen Inseln sowie anhand der charakteristischen Sekretionsdynamik gezeigt werden, daß die Insulinmehrsekretion keine Folge einer harnsäurebedingten B-Zellschädigung sein kann. Ob Harnsäure bei langfristiger Einwirkung eine Schädigung der B-Zellen hervorzurufen vermag, kann jedoch am Versuchsmodell isoliert perfundierter Organe nicht entschieden werden.

5.4. Genetische Faktoren als Ursache für das gemeinsame Vorkommen von Diabetes mellitus und Gicht

Besondere Bedeutung für das gemeinsame Vorkommen von Gicht und Diabetes mellitus kommt dagegen einer familiären Belastung mit einer dieser beiden Krankheiten zu.

Schon 1881 konnte Charcot beobachten, daß beide Stoffwechselstörungen in ein und derselben Familie gehäuft auftreten. Er forderte deshalb, beiden Krankheiten eine gemeinsame genetische Ursache zuzuerkennen, die sowohl zur einen als auch zur anderen Erkrankung führen könne (45). Seit dieser Zeit bestätigten mehrere Autoren die Beobachtung, daß Diabetiker und Gichtpatienten sehr häufig mit einer dieser beiden Krankheiten familiär belastet sind (13,16,107,120,126,167,195,208,251).

5.5. Fettsucht und Hypertriglyceridämie als disponierende Faktoren bei Diabetes mellitus und Gicht

Ein weiterer Grund für das gemeinsame Auftreten beider Stoffwechselstörungen scheint eine gleichzeitig bestehende Fettsucht zu sein.

So konnten Boyle und Mitarbeiter bei Gichtpatienten immer nur dann erhöhte Blutzuckerwerte nachweisen, wenn sie die Glukosekonzentrationen zu denen von Normalgewichtigen in Relation setzten. Beim Vergleich mit Fettsüchtigen hingegen, deren Körpergewicht im Mittel etwa dem der Gichtpatienten entsprach, war dieser Unterschied nicht mehr festzustellen (32).

Es gilt heute als gesichert, daß mehr als die Hälfte aller Gichtkranken übergewichtig ist (115,195). In einer Gruppe von 89 Patienten, die sowohl an Gicht als auch an Diabetes mellitus erkrankt waren, fanden sich 73 % Übergewichtige. Whitehouse und Cleary sehen daher in der Fettsucht die gemeinsame äthiologische Basis für beide Stoffwechselstörungen, vorausgesetzt, daß diese Erkrankungen gemeinsam auftreten (251). Weiss (250) und Knick (138) sind der gleichen Auffassung. Bernheim jedoch mißt der Fettsucht nur eine geringe Bedeutung für die Genese eines Diabetes mellitus bei Gichtpatienten zu (22). Daher mußte noch untersucht werden, ob diabetische Stoffwechselstörungen auch bei Gichtkranken mit Normalgewicht häufiger auftreten.

Für die Diabetesentstehung bei Gichtpatienten scheinen auch erhöhte Triglyceridkonzentrationen von Bedeutung zu sein. Berkowitz stellte bei Gichtkranken ein gehäuftes Vorkommen von Hypertriglyceridämie fest (20). Bei 72 % seiner Patienten mit Hypertriglyceridämie fand er eine verminderte Glukosetoleranz (21). Dies legt seiner Ansicht nach einen engen Zusammenhang zwischen dem Stoffwechsel von Harnsäure, Triglyceriden und Kohlenhydraten nahe (21). Auch andere Autoren, die bei Gichtpatienten erhöhte Triglyceridkonzentrationen nachweisen konnten, wiesen auf die Bedeutung dieser Fettstoffwechselstörung für den Zusammenhang zwischen Gicht und Diabetes mellitus hin (22,138,242).

Wexler konnte durch eine bei Ratten erzeugte Hyperurikämie das gemeinsame Auftreten von Hyperglykämie und Hypertriglycerid-

ämie erzeugen. Die Ursache dieses Phänomens ist bislang unbekannt (250 a).

5.6. Wechselwirkungen zwischen Störungen des Harnsäure- und des Glukosestoffwechsels

Über die engeren Wechselbeziehungen zwischen Störungen des Glukose- und des Harnsäurestoffwechsels liegen zum Teil sehr widersprüchliche Aussagen vor. Einerseits wird angenommen, daß Gicht der Manifestation diabetischer Stoffwechselstörungen vorbeugt (127,250), andererseits soll der manifeste Diabetes die klinische Gichtsymptomatik mildern (13,16,251). Beide Arbeitshypothesen werden durch verschiedene Beobachtungen gestützt.

5.6.1. Hyperurikämie - ein Schutzfaktor gegenüber der Diabetesmanifestation

1964 wurde von Ishmael eine Statistik über 100 Patienten mit Arthritis urica publiziert, von denen 10 zugleich an klinisch manifestem Diabetes erkrankt waren. In 7 von diesen 10 Fällen war die Gicht der Zuckerkrankheit um Jahre vorausgegangen. Bei 6 von 7 Patienten war eine urikosurische Dauerbehandlung durchgeführt worden. Ishmael, der vor dem Jahre 1944 keinen Patienten mit gemeinsamem Vorkommen von Gicht und Diabetes mellitus finden konnte - in einer Zeit der limitierten therapeutischen Möglichkeiten also - diskutiert die Arbeitshypothese einer Diabetesmanifestation durch eine medikamentös induzierte Verminderung des Harnsäurepools. Es wäre also vorstellbar, daß eine bereits latent vorhandene Störung des Glukosestoffwechsels durch eine derartige Behandlung dekompensiert. Da harnsäuresenkende Wirkstoffe selbst

keine diabetogene Wirkung entfalten, scheint diese Schlußfolgerung gerechtfertigt zu sein (127). Ishmael geht in seinen Überlegungen so weit, daß er in der medikamentös provozierten Verminderung des Harnsäurepools den potentiellen Wegfall eines Schutzprinzips vermutet, der einer Diabetesmanifestation Vor-schub leistet (127).

Für einen solchen Zusammenhang spricht auch die Mitteilung von Bartels, daß 15 von 29 Patienten mit beiden Stoffwechselstörungen erst während der Behandlung der Gicht ihre Diabetesmanifestation erlebten (13). Auch die aus tierexperimentellen Untersuchungen bekannte Abnahme der diabetogenen Potenz des Alloxans durch simultane Verabreichung von Harnsäure ist geeignet, die Arbeitshypothese von Ishmael zu stützen (187). Würde man also für die Entstehung des Diabetes mellitus einen alloxanähnlichen Faktor (250) oder eine andere gemeinsame metabolische oder genetische Ursache (116) annehmen, so könnte aus diesen Untersuchungen auf eine protektive Wirkung der Harnsäure geschlossen werden. Bereits im Jahre 1957 hatten Weiss, Segaloff und Moore darauf hingewiesen, daß bei der Manifestation einer Gicht oder einer Hyperurikämie die Wirkung eines diabetogenen Faktors abgeschwächt werden könnte (250).

Daß bei genetischer Disposition zur Zuckerkrankheit klinische Manifestation und Verlauf durch eine gleichzeitig bestehende Gicht günstig beeinflußt werden, wird auch durch Mitteilungen untermauert, denen zufolge beim Zusammentreffen beider Krankheiten fast ausnahmslos blande Diabetesverläufe vorlagen bzw. ein manifester Diabetes durch eine hinzukommende Gicht gebessert wurde (13, 16, 116, 196, 208, 248, 250, 251). So beobachtete Herman, daß Personen mit diabetischen Vorstadien sehr häufig erhöhte Harnsäurewerte aufwiesen (119). Aufschlußreich ist auch eine von Whitehouse vorgelegte 10-Jahresstudie. 10 % seiner Gichtpatienten hatten gleichzeitig einen Diabetes mellitus, 74 von insgesamt 89 Patienten mit

beiden Stoffwechselkrankheiten waren insulinunabhängig. Zudem fand Whitehouse, daß bei 63 % der Kranken die Gicht dem Diabetes mellitus und bei nur 17 % der Betroffenen der Diabetes mellitus der Gicht vorausging, bei 20 % der Patienten traten beide Krankheiten zum gleichen Zeitpunkt auf (251). Entsprechende Mitteilungen über das primäre Auftreten der Harnsäurestoffwechselstörung liegen auch von anderen Autoren vor (13,16, 22,127).

5.6.2. Diabetesmanifestation und gesteigerte Harnsäure-Clearance

Beobachtungen, die darauf hinweisen, daß eine manifeste Gicht durch einen hinzukommenden Diabetes mellitus gebessert werden kann (13,16,251), stehen vermutlich nur in einem scheinbaren Widerspruch zu den bislang diskutierten Mitteilungen. Nach Angaben von Beckett wurde bei Gichtpatienten nach Auftreten der Zuckerkrankheit ein deutlicher Rückgang der Gichtsymptomatik festgestellt (16). Auch Bartels berichtete 1960 über eine Besserung der Arthritis urica bei 15 von 29 Patienten nach Manifestation eines Diabetes mellitus. Insbesondere soll die Häufigkeit der akuten Gelenkattacken bei den betroffenen Patienten abgenommen haben (13). Hasslacher teilte 1974 mit, daß unter den Patienten mit Hypertonie oder Hyperlipoproteinämie diejenigen mit gleichzeitig nachweisbarem Diabetes mellitus wesentlich seltener eine Hyperurikämie aufweisen (114).

Nicht zuletzt deshalb scheint es gerechtfertigt zu sein, dem manifesten Diabetes mellitus eine Schutzwirkung gegenüber der Hyperurikämie und der Gicht zuzusprechen. Im Vergleich zu Nichtdiabetikern scheint also die Gicht bei Zuckerkranken wesentlich schwächer ausgeprägt zu sein (16). Hierfür sprechen auch die im Vergleich zu Stoffwechselgesunden (197,241) bei Diabetikern niedrige-

ren Harnsäurekonzentrationen (16,48,114,117,119,196).

Nach Beckett führt der manifeste Diabetes mellitus über einen bislang noch unbekannten Mechanismus zu einer vermehrten Harnsäureausscheidung (16). So konnte gezeigt werden, daß die Harnsäure-Clearance durch glukoseinduzierte Hyperglykämien erhöht wird (113,204,233). Über die hierfür erforderlichen Blutzuckerkonzentrationen liegen indessen unterschiedliche Angaben vor (29,47,118), die zwischen Konzentrationen unterhalb der Nierenschwelle (47) und Werten von maximal 400 mg/100 ml Glukose (29) schwanken. Eine gleichzeitige Erhöhung der Inulin-Clearance bzw. der glomerulären Filtrationsrate wurde bei diesen Untersuchungen nicht beobachtet (118,119). Es scheint auch kein verstärkter osmodiuretischer Effekt zugrunde zu liegen (118,233). Jedoch wäre denkbar, daß die sowohl bei Diabetes mellitus als auch bei artefizieller Hyperglykämie vermehrte Glukoserückresorption im proximalen Tubulus auf Kosten der Harnsäureabsorption stattfindet (118,119). Die erhöhte Harnsäure-Clearance könnte die bei manifesten Diabetikern beobachteten niedrigeren Harnsäurewerte erklären (16,48,118,119). Darüberhinaus wurde auch eine verminderte Harnsäureproduktion beim Diabetiker diskutiert (16,119).

Die beim entgleiten Diabetes mellitus auftretende Hyperurikämie ist eine Folge der begleitenden Ketoazidose (41,196,213). Der durch die Ketoazidose bedingte katabole Zellstoffwechsel induziert einerseits einen vermehrten Anfall von Harnsäure, andererseits ist die Ketoazidose für eine vermehrte renale Harnsäureretention verantwortlich (80).

5.7. Arbeitshypothesen über die Zusammenhänge zwischen Störungen des Harnsäure- und des Glukosestoffwechsels

Würde man den beim Menschen bekannten und auch im Tierexpe-

riment nachgewiesenen Beziehungen zwischen Störungen des Harnsäure- und Glukosestoffwechsels die eigenen Untersuchungsergebnisse am isoliert perfundierten Rattenpankreas zugrunde legen, so könnten die besprochenen Zusammenhänge zwischen beiden Stoffwechseldefekten über das bisher fehlende Glied der glukosepotenzierenden Wirkung der Harnsäure auf die Insulinsekretion eine gemeinsame Basis finden.

Es könnte demnach davon ausgegangen werden, daß ein erhöhter Harnsäurepool diabetischen Stoffwechselstörungen eher entgegenwirkt und ein manifester Diabetes mellitus seinerseits dazu beitragen kann, die Gichtsymptomatik über den Mechanismus einer zunehmenden renalen Harnsäure-Clearance abzuschwächen. Bei einer solchen Betrachtungsweise darf der Zeitfaktor nicht unberücksichtigt bleiben. Unter der Annahme, daß bei einem Patienten mit genetischer oder metabolischer Disposition zu beiden Stoffwechselstörungen die Gichtmanifestation dem Auftreten des Diabetes mellitus vorausgeht, wäre es denkbar, daß die Manifestation der Zuckerkrankheit zunächst über den potenzierenden Einfluß der Harnsäure auf die glukosestimulierte Insulinsekretion verhindert wird.

Bei Fortdauer der prädiabetischen Stoffwechselstörung und eventuell noch hinzukommenden exogenen Noxen könnte ein Zustand erreicht werden, der mit einer kontinuierlichen Abnahme des sekretorischen Potentials der B-Zellen verbunden ist. Damit dürfte gleichzeitig auch der sekretionsfördernde Einfluß der Harnsäure allmählich an Wirksamkeit verlieren. Schließlich könnte ein Stadium erreicht werden, in dem die Zuckerkrankheit manifest wird und nun ihrerseits über eine vermehrte renale Harnsäure-Clearance den vorher erhöhten Harnsäurepool zu reduzieren vermag.

Somit müßte der Harnsäure eine zeitlich begrenzte Schutzfunktion gegenüber der Diabetesmanifestation zugesprochen werden.

Wenn man jedoch davon ausgeht, daß die glukosepotenzierte Insulinsekretion zu einer rascheren Erschöpfung der Hormonsekretion führt, käme der Harnsäure gegebenenfalls auch ein diabetogener Effekt zu. Würde man auch hierfür die tierexperimentellen Befunde zugrunde legen, käme einem solchen Einfluß erst bei erhöhten Serumglukosekonzentrationen eine pathogene Bedeutung zu.

6. Zusammenfassung

Im ersten Teil der Arbeit werden die bislang gewonnenen Erkenntnisse über den Ablauf der Insulinsekretion besprochen. Die Vielzahl der heute vorliegenden Untersuchungsergebnisse, denen vor allem tierexperimentelle Studien zugrunde liegen, weist darauf hin, daß die Vorstellungen über die Mechanismen der Hormonfreisetzung zu einem großen Teil arbeitshypothetischen Charakter besitzen.

Die biphasische Dynamik der Insulinsekretion läßt sich derzeit am besten mit der gut fundierten Zwei-Kompartiment-Theorie erklären. Einige Argumente sprechen auch für eine glukoseinduzierte, andere für eine insulininduzierte Rückkopplungshemmung.

Die Wirkungen der bislang bekannten Substanzen mit hemmendem oder förderndem Einfluß auf die Insulinsekretion werden zusammenfassend dargestellt.

Zudem wird das Versuchsmodell der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse mit der Technik der Inkubation und der Perifusion Langerhans'scher Inseln verglichen.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte anhand tierexperimenteller Untersuchungen geprüft werden, ob die Insulinsekretion dem Einfluß von Harnsäure unterliegt. Anlaß zu dieser Studie war der von mehreren Arbeitsgruppen erbrachte Beweis, daß die mit Harnsäure chemisch eng verwandten Methylxanthine Coffein und Theophyllin insulinsekretionsfördernde Eigenschaften aufweisen. Da bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine vergleichbaren Untersuchungen mit Harnsäure vorliegen, erschien es gerechtfertigt, eine solche Studie durchzuführen.

Als Versuchspräparate dienten isolierte Rattenbauchspeicheldrüsen, die mittels einer nach Grodsky modifizierten Perfu-

sionstechnik stimuliert wurden. Anhand von Vorversuchen wurde die Methode standardisiert sowie die Brauchbarkeit und Leistungsfähigkeit des gewählten Modells getestet. Darüber hinaus wurde der für die vorgesehenen Experimente notwendige Nachweis der morphologischen und funktionellen Integrität der perfundierten Organe erbracht.

Die Perfusionen erfolgten mit Glukosekonzentrationen von 100 mg/100 ml und 300 mg/100 ml ohne Zusatz von Harnsäure sowie mit Glukosekonzentrationen von 100 mg/100 ml und 300 mg/100 ml bei gleichzeitigem Zusatz von Harnsäure in einer Konzentration von 12 mg/100 ml. Die erzielten Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Bei Stimulation der B-Zellen mit Glukosekonzentrationen von 100 mg/100 ml im Perfusat kommt es lediglich zu einer geringen initialen Insulinfreisetzung, die durch den Zusatz von Harnsäure in einer Konzentration von 12 mg/100 ml nicht gesteigert werden kann.
2. Bei Stimulation der B-Zellen mit einer Glukosekonzentration von 300 mg/100 ml im Perfusat kommt es zu einer stark ausgeprägten biphasischen Insulinfreisetzung, die durch den Zusatz von Harnsäure in einer Konzentration von 12 mg/100 ml etwa um den Faktor 2 gesteigert werden kann. Die Zunahme der Insulinsekretion betrifft die erste und die zweite Sekretionsphase in gleichem Maße.
3. Der durch Harnsäure in Abhängigkeit von der Glukosekonzentration erzielte Nettoeffekt weist darauf hin, daß Harnsäure eine potenzierende Wirkung auf die Insulinsekretion besitzt. Ein Vergleich dieser Eigenschaft mit dem experimentell bereits gesicherten Effekt der chemisch eng verwandten Methylxanthine Coffein und Theophyllin liegt nahe.

Im dritten Teil der Arbeit werden die beim Menschen bislang bekannten Beziehungen zwischen Störungen des Harnsäure- und des Glukosestoffwechsels dargestellt. Ob die im Perfusionsexperiment mit Ratten gewonnenen Resultate zur Wirkung der Harnsäure auf die Insulinsekretion geeignet sind, derartige Wechselbeziehungen zu deuten, muß derzeit noch offen bleiben.

Eine abschließend vorgestellte Arbeitshypothese könnte eine Grundlage für weiterführende erklärende Untersuchungen sein.

TABELLEN (7)

Tab. 1

Versuchsbedingungen verschiedener Arbeitsgruppen bei der Perfusion isolierter Rattenbauchspeicheldrüsen

	Bosboom, Zweens (30)	Fußgänger, Laube, Straub, Pfeiffer (76, 77, 154, 155)	Grodsky, Curry, Bennett (54, 55, 57, 158)	Loubatières, Mariani (165, 166, 186)	Sussman, Vaughan (236, 237)
Ratten	Male Wistar albino	Male Wistar albino	Long Evans	Male Wistar	M. Sprague-Dawley
Gewicht	240 - 290 g	200 - 300 g	250 - 400 g	300 - 350 g	300 - 400 g
Präparation	Organkomplex *	Pankreas	Organkomplex *	Pankreas	Pankreas (z. T. mit Duodenum)
Nahrungszufuhr	je nach Fragestellung	praeop. 15 Std. Nahrungskarenz	praeop. 24 Std. Nahrungskarenz	praeoperativ ad libitum	praeoperativ ad libitum
Perfusat	Krebs Ringer Bi- carbonat Puffer + 4 % Rinderalbumin	Puffer nach Um- breit + 1,0 % Rinderalbumin	Puffer nach Um- breit + 4,0 % Humanaalbumin	Elektrolytlösung + 0,2 % Rinder- albumin	Krebs Ringer Bi- carbonat Puffer + 2,5 % Rinderalbumin + 20 % Rattenblut
pH des Perfusats	7,35 nach Begasen**	7,35 vor Begasen**	7,40 vor Begasen** 7,24 n. Begasen**	7,2 n. Begasen**	-
Temperatur d. P.	-	38° C	37 - 38° C	-	37° C
Durchflußrate	4 ml/min	2,5 ml/min	10 bzw. 12 ml/min	ca. 2 ml/min	2,0 bis 2,5 ml/min
Perfusionsdruck	30 - 60 mmHg	40 - 60 mmHg	60 - 70 mmHg	20 - 35 mmHg	20 - 70 mmHg
Intervalle der Probeentnahme	5 min	1 - 2 min	15, 30 u. 60 sek	-	-
Narkose	Nembutal ^R 4,5 mg/100 g KG	Nembutal ^R	Na-Pentobarbital	Nembutal ^R	Na-Pentobarbital 4,3 mg/100 g KG

* Organkomplex: an der Bauchspeicheldrüse wurden Magen, proximales Duodenum und Milz belassen. ** Begast wurde mit Carbogen (95 Vol% O₂ + 5 Vol% CO₂). - Keine Angabe

Tab. 2

Insulinsekretion der isoliert perfundierten Rattenbauchspeicheldrüse bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) + Glibenclamid (48 μ g/100 ml)

Versuchsabschnitt	sezernierte Insulinmenge (μ E)	mittlere Sekretionsrate (μ E/min)
Hauptperfusion	12 277	315
erste Sekretionsphase	4 235	706
zweite Sekretionsphase	8 042	244

Tab. 3

Gewicht der Versuchstiere (männliche Wistar-Ratten)

Versuchsserie	Gewicht (g)
I (n = 11)	237,6 ⁺ ± 61,6
II (n = 12)	211 ^{**} (D _u 179 - D _o 315)
III (n = 12)	218 ^{**} (D _u 200 - D _o 350)
IV (n = 11)	212 ^{**} (D _u 188 - D _o 305)

* arithmetisches Mittel ± Standardabweichung

** Median mit 1. (D_u) und 9. (D_o) Dezil

Tab. 4

Mittlerer Perfusionsdruck

Versuchsserie	Mittlerer Perfusionsdruck (mm Hg)
I (n = 11)	65 ^{**} (D_u 60 - D_o 75)
II (n = 12)	68 [*] $\pm$ 12
III (n = 12)	62 [*] $\pm$ 3
IV (n = 11)	65 [*] $\pm$ 9

* arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung

** Median mit 1. (D_u) und 9. (D_o) Dezil

Tab. 5

Effektive Flußrate

Versuchsserie	Effektive Flußrate (ml/min)
I (n = 11)	3,70 ⁺ ± 0,69
II (n = 12)	3,80 ⁺ ± 0,52
III (n = 12)	3,42 ⁺ ± 0,50
IV (n = 11)	4,13 ⁺ ± 0,33

⁺ arithmetisches Mittel ± Standardabweichung

Tab. 6

Sekretions- und diffusionsbedingter Volumenverlust während der Hauptperfusion

Versuchsserie	Volumenverlust (ml)
I (n = 11)	39,6* $\pm$ 22,6
II (n = 12)	32,8** (D _u 25,0 - D _o 61,0)
III (n = 12)	68,8* $\pm$ 34,1
IV (n = 11)	32,4* $\pm$ 6,6

* arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung

** Median mit 1. (D_u) und 9. (D_o) Dezil

Tab. 7

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) -

Versuchsserie I (n = 11)

Versuchsabschnitt	sezernierte Insulinmenge (μE)	mittlere Sekretionsrate ($\mu\text{E}/\text{min}$)
Hauptperfusion	$1\,426,4^+ \pm 989,0$	$36,8^+ \pm 25,3$
erste Sekretionsphase	$898,2^+ \pm 541,9$	$136,1^+ \pm 84,7$
zweite Sekretionsphase	$238,9^{++}$ ($D_u\,31,0 - D_o\,1\,213,0$)	$7,5^{++}$ ($D_u\,1,0 - D_o\,39,1$)

⁺ arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung

⁺⁺ Median mit 1. (D_u) und 9. (D_o) Dezil

Tab. 8

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml) - Versuchsserie II (n = 12)

Versuchsabschnitt	sezernierte Insulinmenge (μ E)	mittlere Sekretionsrate (μ E/min)
Hauptperfusion	1 377,5 ⁺⁺ (D _u 1 021 - D _o 2 597)	36,3 ⁺⁺ (D _u 25,8 - D _o 66,6)
erste Sekretionsphase	1 107,3 ⁺ $\pm$ 640,9	157,7 ⁺ $\pm$ 103,9
zweite Sekretionsphase	460,8 ⁺ $\pm$ 380,9	14,5 ⁺ $\pm$ 11,8

* arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung

⁺⁺ Median mit 1. (D_u) und 9. (D_o) Dezil

Tab. 9

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen bei Stimulation mit Glukose (300 mg/100 ml) -
Versuchsserie III (n = 12)

Versuchsabschnitt	sezernierte Insulinmenge (μ E)	mittlere Sekretionsrate (μ E/min)
Hauptperfusion	36 912,1* $\pm$ 14 929,1	920,9* $\pm$ 370,6
erste Sekretionsphase	5 695,4* $\pm$ 2 099,4	911,3* $\pm$ 385,6
zweite Sekretionsphase	31 216,7* $\pm$ 13 302,6	919,2* $\pm$ 387,0

* arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung

Tab. 10

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen bei Stimulation mit Glukose (300 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/100 ml) - Versuchsserie IV (n = 11)

Versuchsabschnitt	sezernierte Insulinmenge (μ E)	mittlere Sekretionsrate (μ E/min)
Hauptperfusion	78 633,6 ⁺ $\pm$ 26 281,4	1 989,3 ⁺ $\pm$ 675,1
erste Sekretionsphase	11 478,9 ⁺ $\pm$ 3 765,8	1 945,5 ⁺ $\pm$ 569,9
zweite Sekretionsphase	67 154,7 ⁺ $\pm$ 23 699,4	1 996,5 ⁺ $\pm$ 720,5

⁺ arithmetisches Mittel $\pm$ Standardabweichung

Tab. 11

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen
bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) - Versuchsserie I

Ver- such	I_G (μE)	I_I (μE)	I_{II} (μE)	mI_G ($\mu E/\text{min}$)	mI_I ($\mu E/\text{min}$)	mI_{II} ($\mu E/\text{min}$)	t (min)
1	3 228	1 920	1 308	81,7	295,4	39,6	6 1/2
2	2 844	1 688	1 156	73,9	260	36,1	6 1/2
3	2 194	981	1 213	57,0	131	39,1	7 1/2
4	1 843	725	1 118	47,9	96,6	36,1	7 1/2
5	1 342	1 000	342	34,4	167	10,4	6
6	1 136	897	239	29,9	149	7,5	6
7	986	940	45,8	25,0	134	1,4	7
8	937	906	31,0	25,0	139	1,0	6 1/2
9	548	400	148	14,4	66,6	4,6	6
10	333	331	2,1	8,5	47,3	0,1	7
11	299	92,4	206	7,6	10,9	6,7	8 1/2

Angegeben sind die Werte der einzelnen Versuche.

I_G : während der gesamten Hauptperfusion freigesetzte Insulinmenge

I_I : während der ersten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

I_{II} : während der zweiten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

mI_G : mittlere Sekretionsrate während der gesamten Hauptperfusion

mI_I : mittlere Sekretionsrate während der ersten Sekretionsphase

mI_{II} : mittlere Sekretionsrate während der zweiten Sekretionsphase

t: Dauer der ersten Sekretionsphase

Tab. 12

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen
bei Stimulation mit Glukose (100 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/
100 ml) - Versuchsserie II

Ver- such	I_G (μE)	I_I (μE)	I_{II} (μE)	mI_G ($\mu E/min$)	mI_I ($\mu E/min$)	mI_{II} ($\mu E/min$)	t (min)
1	3 380	2 226	1 154	87,8	405	35,0	5 1/2
2	2 597	1 694	903	66,6	242	28,2	7
3	2 101	1 941	160	56,8	194	5,9	10
4	1 540	1 528	12,0	40,0	235	0,4	6 1/2
5	1 507	1 297	210	38,1	173	6,6	7 1/2
6	1 414	1 225	189	37,2	175	6,1	7
7	1 341	647	694	35,3	92,4	22,4	7
8	1 151	207	944	30,3	29,5	30,5	7
9	1 181	812	369	29,2	108	11,2	7 1/2
10	1 116	622	494	29,0	83,0	15,9	7 1/2
11	1 021	649	372	25,8	99,8	11,3	6 1/2
12	470	441	29,4	11,8	55,1	0,9	8

Angegeben sind die Werte der einzelnen Versuche.

I_G : während der gesamten Hauptperfusion freigesetzte Insulinmenge

I_I : während der ersten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

I_{II} : während der zweiten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

mI_G : mittlere Sekretionsrate während der gesamten Hauptperfusion

mI_I : mittlere Sekretionsrate während der ersten Sekretionsphase

mI_{II} : mittlere Sekretionsrate während der zweiten Sekretionsphase

t: Dauer der ersten Sekretionsphase

Tab. 13

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen
bei Stimulation mit Glukose (300 mg/100 ml) - Versuchsserie III

Ver- such	I_G (μ E)	I_I (μ E)	I_{II} (μ E)	mI_G (μ E/min)	mI_I (μ E/min)	mI_{II} (μ E/min)	t (min)
1	61 165	8 864	52 301	1 529	1 477	1 538	6
2	58 794	6 300	52 494	1 434	669	1 522	6 1/2
3	52 930	8 626	44 304	1 323	1 568	1 284	5 1/2
4	43 649	7 782	35 867	1 091	1 297	1 055	6
5	42 190	5 806	36 384	1 082	968	1 103	6
6	35 928	6 589	29 339	887	1 098	850	6
7	31 477	3 202	28 275	797	493	857	6 1/2
8	29 525	5 931	23 594	738	912	704	6 1/2
9	28 313	3 830	24 483	708	638	720	6
10	20 873	4 611	16 262	522	769	478	6
11	19 535	2 203	17 332	476	339	502	6 1/2
12	18 566	4 601	13 965	464	708	417	6 1/2

Angegeben sind die Werte der einzelnen Versuche.

I_G : während der gesamten Hauptperfusion freigesetzte Insulinmenge

I_I : während der ersten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

I_{II} : während der zweiten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

mI_G : mittlere Sekretionsrate während der gesamten Hauptperfusion

mI_I : mittlere Sekretionsrate während der ersten Sekretionsphase

mI_{II} : mittlere Sekretionsrate während der zweiten Sekretionsphase

t: Dauer der ersten Sekretionsphase

Tab. 14

Insulinsekretion isoliert perfundierter Rattenbauchspeicheldrüsen
bei Stimulation mit Glukose (300 mg/100 ml) + Harnsäure (12 mg/
100 ml) - Versuchsserie IV

Ver- such	I_G (μE)	I_I (μE)	I_{II} (μE)	mI_G ($\mu E/min$)	mI_I ($\mu E/min$)	mI_{II} ($\mu E/min$)	t (min)
1	117 869	17 266	100 603	3 022	2 878	3 049	6
2	107 592	12 248	95 344	2 759	2 041	2 889	6
3	101 172	12 387	88 785	2 561	2 065	2 650	6
4	97 150	14 701	82 449	2 429	2 450	2 425	6
5	90 871	13 773	77 098	2 272	2 295	2 268	6
6	80 822	8 820	72 002	2 046	1 764	2 087	5
7	64 694	15 985	48 709	1 659	2 459	1 499	6 1/2
8	62 177	10 078	52 099	1 554	1 680	1 532	6
9	57 750	6 070	51 680	1 444	1 012	1 520	6
10	43 443	7 983	35 460	1 100	1 597	1 028	5
11	41 430	6 957	34 473	1 036	1 159	1 014	6

Angegeben sind die Werte der einzelnen Versuche.

I_G : während der gesamten Hauptperfusion freigesetzte Insulinmenge

I_I : während der ersten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

I_{II} : während der zweiten Sekretionsphase freigesetzte Insulinmenge

mI_G : mittlere Sekretionsrate während der gesamten Hauptperfusion

mI_I : mittlere Sekretionsrate während der ersten Sekretionsphase

mI_{II} : mittlere Sekretionsrate während der zweiten Sekretionsphase

t: Dauer der ersten Sekretionsphase

Tab. 15

Prozentuale Zunahme der glukosestimulierten (300 mg/100 ml -
n = 12) Insulinsekretion der isoliert perfundierten Rattenbauch-
speicheldrüse bei Zugabe von Harnsäure (12 mg/100 ml -
n = 11) zum Perfusionsmedium

Versuchsabschnitt	Zunahme der sezernierten Insulinmenge (%)	Zunahme der mittleren Sekretionsrate (%)
Hauptperfusion	113,0	116,0
erste Sekretionsphase	101,6	113,5
zweite Sekretionsphase	115,1	117,2

L I T E R A T U R (8)

1. Alberti, K.G.M.M. , P.S. Schein, C.R.S. Houghton,
D.H. Williamson:
Experimental Studies with Glibenclamide in the Rat
Postgrad. Med. J. 46 (1970), 9-15
2. Ammon, H. P. T. , J. Steinke:
Effect of 6-Aminonicotinamide in Insulin Release and C-14
Glucose Oxidation by Isolated Pancreatic Rat Islets:
Difference between Glucose, Tolbutamide and Aminophylline
Endocrinology 91 (1972), 33-38
3. Ammon, H. P. T. :
Effect of Glucose and Methylene Blue (MB) on NADP, NADPH
and Insulin Secretion of Isolated Pancreatic Rat Islets
14. Frühjahrstagung der Deutschen Pharmakologischen
Gesellschaft, Mainz, 1973, R 1
4. Ammon, H. P. T. , E. Hoppe:
Einfluß von Leucin auf den NADPH/NADP-Quotienten isolier-
ter Pankreasinseln der Ratte
11. Kongress der Deutschen Diabetesgesellschaft, Braunlage,
1976, R 1
5. Ammon, H. P. T. , E. Verspohl:
Pyridine Nucleotides in Pancreatic Islets During Inhibition
of Insulin Release by Exogenous Insulin
Endocrinology 99 (1976), 1469-1476
6. Ammon, H. P. T. , E. Verspohl, M. Händel:
Pentosephosphate Shunt (PPS) Activity of Pancreatic Islets
Depends on Glucose Concentration
Diabetologia 13 (1977), Abstr. 3
7. Anderson, E. , J. A. Long:
The Effect of Hyperglycemia on Insulin Secretion as
Determined with the Isolated Rat Pancreas in a Perfusion
Apparatus
Endocrinology 40 (1947), 92-97

8. Ashcroft, S. J. H. , J. M. Bassett, P. J. Randle:
Isolation of Human Pancreatic Islets Capable of Releasing
Insulin and Metabolising Glucose in Vitro
The Lancet I (1971), 888-889
9. Ashcroft, S. J. H. , P. J. Randle, I. -B. Täljedal:
Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase Activity in Normal
Mouse Pancreatic Islets
FEBS Letters 20 (1972), 263-266
10. Assal, J. P. , T. N. Patel, J. Steinke:
Tentative Mechanism of Insulin Feedback Inhibition on
Insulin Release
Clin. Res. 21 (1973), 272
11. Atkins, T. , A. J. Matty:
Adenyl Cyclase and Phosphodiesterase Activity in the Isolated
Islets of Langerhans of Obese Mice and their Lean Litter Mates:
The Effect of Glucose, Adrenaline and Drugs on Adenyl Cyclase
Activity
J. Endocr. 51 (1971), 67-78
12. Aynsley-Green, A. , J. F. Biebuyck, K. G. M. M. Alberti:
Anaesthesia and Insulin Secretion:
The Effects of Diethyl Ether, Halothane, Pentobarbitone
Sodium and Ketamine Hydrochloride on Intravenous Glucose
Tolerance and Insulin Secretion in the Rat
Diabetologia 9 (1973), 274-281
13. Bartels, E. C. , M. C. Balodimos, L. R. Corn:
The Association of Gout and Diabetes Mellitus
Med. Clin. N. Amer. 44 (1960), 433-438
14. Basabe, J. C. , N. L. Lopez, J. K. Viktora, F. W. Wolff:
Insulin Secretion Studied in the Perfused Rat Pancreas -
II. Effect of Glucose, Glucagon, 3'5' Adenosine Monophosphate,
Theophylline, Imidazole and Phenoxybenzamine;
Their Interaction with Diazoxide
Diabetes 20(1971), 457-466

15. Baum, D., D. Porte:
Effect of Acute Hypoxia on Circulating Insulin Levels
J. Clin. Endocrinol. Metab. 29 (1969), 991-994
16. Beckett, A.G., J.G. Lewis:
Gout and the Serum Uric Acid in Diabetes Mellitus
Quart. J. Med. 29 (1960), 443-457
17. Bencosme, S.A., V. Tsutsumi, J.M. Martin, H.K. Akerblom:
Ultrastructural Changes in B Cells of Pancreatic Islets from
Rats with Elevated Levels of Circulating Growth Hormone
Secreted by MtT-W15 Tumor
Diabetes 20 (1971), 15-26
18. Bendersky, G., H. Kreithen:
Unpublished Data
in: Padova, J., G. Bendersky:
Hyperuricemia in Diabetic Ketoacidosis
New Eng. J. Med. 267 (1962), 530-534
19. Bennett, L.L., G.M. Grodsky:
Multiphasic Aspects of Insulin Release after Glucose and Glucagon
in: Östman, J., Milner, R.D.G.: Diabetes
Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1969, 462-469
20. Berkowitz, D.:
Blood Lipid and Uric Acid Interrelationships
JAMA 190 (1964), 856-858
21. Berkowitz, D.:
Gout, Hyperlipidemia and Diabetes Interrelationships
JAMA 197 (1966), 117-120
22. Bernheim, C., H. Ott, G. Zahnd, E. Martin:
Goutte et diabète. I. La goutte et ses relations avec le diabète
Schweiz. med. Wschr. 98 (1968), 33-35
23. Boehringer Mannheim GmbH:
Test-Fibel Glucose, Hexokinase-Methode
1. Auflage, 1971

24. Boehringer Mannheim GmbH:
Test-Fibel Harnsäure, Uricase-Methode
1. Auflage, 1971
25. Boehringer Mannheim GmbH:
Test-Fibel L-Lactat
1. Auflage, 1971
26. Boehringer Mannheim GmbH:
Arbeitsanleitung zur Biochemica Test-Combination Glucose
Hexokinase-Methode
1. Auflage, 1974
27. Boehringer Mannheim GmbH:
Arbeitsanleitung zur Biochemica Test-Combination Urica-quant,
Enzymatischer Farb-Test
1. Auflage, 1974
28. Boehringer Mannheim GmbH:
Arbeitsanleitung zur Test-Combination Lactat
Ausgabe Januar, 1976
29. Bonsnes, R. W. , E. S. Dana:
On the Increased Uric Acid Clearance Following the Intravenous
Infusion of Hypertonic Glucose Solutions
J. Clin. Invest. 25 (1946), 386-388
30. Bosboom, R.S. , J. Zweens, P.R. Bouman:
Effects of Feeding and Fasting on the Insulin Secretory Response
to Glucose and Sulfonylureas in Intact Rats and Isolated Perfused
Rat Pancreas
Diabetologia 9 (1973), 243-250
31. Bowen, V. , N.R. Lazarus:
Glucose-mediated Insulin Release: 3',5' cAMP Phosphodiesterase
Diabetes 22 (1973), 738-743

32. Boyle, J. A., M. McKiddie, K. D. Buchanan, M. K. Jasani,
H. W. Gray, I. M. D. Jackson, W. W. Buchanan:
Diabetes Mellitus and Gout, Blood Sugar and Plasma Insulin
Responses to Oral Glucose in Normal Weight, Overweight, and
Gouty Patients
Ann. rheum. Dis. (1969), 374-378
33. Bressler, R., M. V. Cordon, K. Brendel:
Studies on the Role of Adenylcyclase in Insulin Secretion
Arch. Intern. Med. 123 (1969), 248-251
34. Brisson, G. R., F. Malaisse-Lagae, W. J. Malaisse:
The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-induced Insulin Release.
VII. A Proposed Site of Action for Adenosine-3', 5'-cyclic Monophos-
phate
J. Clin. Invest. 51 (1972), 232-241
35. Brisson, G. R., W. J. Malaisse:
The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-induced Insulin Release.
XI. Effects of Theophylline and Epinephrine on ⁴⁵ Ca Efflux from
Perifused Islets
Metabolism 22 (1973), 455-465
36. Burr, I. M., W. Stauffacher, L. Balant, A. E. Renold, G. M. Grodsky:
Regulation of Insulin Release in Perifused Pancreatic Tissue
Acta diabet. lat. 6 (1969), 580-596
37. Burr, I. M., L. Balant, W. Stauffacher, A. E. Renold:
Perifusion of Rat Pancreatic Tissue in Vitro: Substrate Modification
of Theophylline-Induced Biphasic Insulin Release
J. Clin. Invest. (1970), 2097-2105
38. Burr, I. M., Y. Kanazawa, E. B. Marliss, A. E. Lambert:
Biphasic Insulin Release from Perifused Cultured Fetal Rat
Pancreas - Effects of Glucose, Pyruvate, and Theophylline
Diabetes 20 (1971), 592-597
39. Campbell, R. C. :
Statistische Methoden für Biologie und Medizin
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971

40. Candela, J.R., H.G. Coore:
Islet Cell Hormones: Insulin Secretion in-vitro
in: Pfeiffer, E.F.: Handbuch des Diabetes mellitus, Bd. I
J.F. Lehmanns Verlag, München, 1969
41. Candia de, S.:
L'acido urico ematico nel diabete mellito
Riforma Med. 26 (1930), 1035-1036
42. Cantani, A.:
Der Diabetes mellitus
Denicke's Verlag, Berlin, 1877
43. Cerasi, E., R. Luft, S. Efendic:
Decreased Sensitivity of the Pancreatic Beta Cells to Glucose in
Prediabetic and Diabetic Subjects - A Glucose Dose-Response Study
Diabetes 21 (1972), 224-234
44. Cerasi, E., V. Grill:
Die Rolle des zyklischen AMP bei der Kontrolle der Insulinsekretion
Münch. med. Wschr. 119 (1977), 1229-1236
45. Charcot, J.M.:
Clinical Lectures on Senile and Chronic Diseases
New Sydenham Society, London, 1881
46. Charles, M.A., R. Fanska, F.G. Schmid, P.H. Forsham,
G.M. Grodsky:
Adenosine 3', 5'-Monophosphate in Pancreatic Islets:
Glucose-Induced Insulin Release
Science 179 (1973), 569-571
47. Christensen, P.J., O.R. Steenstrup:
Uric Acid Excretion with Increasing Plasma Glucose Concentration
(Pregnant and Non-Pregnant Cases)
Scandinav. J. Clin. and Lab. Investigation 10 (1958), 182-185
48. Coek de, N.M.:
Serum Urate and Urate Clearance in Diabetes Mellitus
Aust. Ann. Med. 14 (1965), 205-209

49. Collins-Williams, J. , C.C. Bailey:
Effect of Uric Acid in Glutathione-Deficient Rabbits
P.S.E.B.M. 71 (1949), 583-587
50. Colwell, A.R. , M. Feinzimer, D. Cooper, L. Zuckerman:
Alcohol Inhibition of Cyclic AMP-induced Insulin Release
Diabetes 22 (1973), 854-857
51. Conn, J.W. , L.H. Louis, M.W. Johnston:
Metabolism of Uric Acid, Glutathione and Nitrogen, and
Excretion of "11-Oxysteroids" and 17-Ketosteroids During
Induction of Diabetes in Man with Pituitary Adrenocorticotrophic
Hormone
J. Lab. and Clin. Med. 34 (1949), 255-269
52. Coore, H.G. , P.J. Randle:
Secretion of Insulin by Rabbit Pancreas in vitro
Biochem. J. 84 (1962), 78p
53. Coore, H.G. , P.J. Randle:
Regulation of Insulin Secretion Studied with Pieces of Rabbit
Pancreas Incubated in vitro
Biochem. J. 93 (1964), 66-78
54. Curry, D.L. , L.L. Bennett, G.M. Grodsky:
Requirement for Calcium Ion in Insulin Secretion by the Perfused
Rat Pancreas
Am. J. Physiol. 214 (1968), 174-178
55. Curry, D.L. , L.L. Bennett, G.M. Grodsky:
Dynamics of Insulin Secretion by the Perfused Rat Pancreas
Endocrinology 83 (1968), 572-584
56. Curry, D.L. , K.P. Curry:
Hypothermia and Insulin Secretion
Endocrinology 87 (1970), 750-755

57. Curry, D.L. , L.L. Bennett:
Dynamics of Insulin Release by Perfused Rat Pancreases:
Effects of Hypophysectomy, Growth Hormone, Adrenocortico-
tropic Hormone and Hydrocortisone
Endocrinology 93 (1973), 602-609
58. Dean, P.M. , E.K. Matthews:
The Bioelectrical Properties of Pancreatic Islet Cells:
Effect of Diabetogenic Agents
Diabetologia 8 (1972), 173-178
59. Denis, G. , M.P. Launay:
Carbohydrate Intolerance in Gout
Metabolism 18 (1969), 770-775
60. Devis, G. , E. Van Obberghen, G. Somers, F. Malaisse-Lagae,
L. Orci, W.J. Malaisse:
Dynamics of Insulin Release and Microtubular-Microfilamentous
System - II. Effect of Vincristine
Diabetologia 10 (1974), 53-59
61. Doerr, W. , V. Becker:
Bauchspeicheldrüse
in: Cohrs, P. , R. Jaffé, H. Meessen:
Pathologie der Laboratoriumstiere
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1958
62. Dunn, J.P. , G.W. Brooks, J. Mausner, G.P. Rodnan:
Social Class Gradient of Serum Uric Acid Levels in Males
JAMA 185 (1963), 431-436
63. Dunn, J.S. , N.G.B. McLetchie:
Experimental Alloxan Diabetes in the Rat
Lancet II (1943), 384-387
64. Dunn, J.S. , H.L. Sheehan, N.G.B. McLetchie:
Necrosis of Islets of Langerhans Produced Experimentally
Lancet I (1943), 484-487

65. Dupre, J. , S.A. Ross, D. Watson, J.C. Brown:
Stimulation of Insulin Secretion by Gastric Inhibitory
Polypeptide in Man
J. Clin. Endocrinol. Metab. 37 (1973), 826-828
66. Efendić, Š. , E. Cerasi, R. Luft:
Effect of Phentolamine and Preperfusion with Glucose on
Insulin Release from the Isolated Perfused Pancreas from
Fasted and Fed Rats
Diabetologia 11 (1975), 407-410
67. Efendić, S. , R. Luft:
Studies on the Inhibitory Effect of Somatostatin on Glucose
Induced Insulin Release in the Isolated Perfused Rat Pancreas
Acta endocr. 78 (1975), 510-515
68. Feldman, J.M. , H.E. Lebovitz:
Ammonium Ion, a Modulator of Insulin Secretion
Am. J. Physiol. 221 (1971), 1027-1032
69. Fiedler, H. , L. Orosz, H.J. Hahn:
Influence of Heparin on Insulin Secretion in Vitro
Acta biol. med. germ. 31 (1973), 613-615
70. Fink, G. , R.A. Gutman, J.C. Cresto, H. Selawry, R. Lavine,
L. Recant:
Glucose-Induced Insulin Release Patterns:
Effect of Starvation
Diabetologia 10 (1974), 421-425
71. Förster, H. , H. Mehnert:
Kohlenhydratstoffwechsel
in: Siegenthaler, W. : Klinische Pathophysiologie, 2. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1973
72. Frerichs, H. , R. Gerber, W. Creutzfeldt:
Insulinsekretion in vitro. II. Hemmung der glucoseinduzierten
Insulinabgabe durch Diazoxide
Diabetologia 2 (1966), 269 - 276

73. Frerichs, H. , W. Creutzfeldt:
Diabetes durch Beta-Zytotoxine
in: Pfeiffer, E.F. : Handbuch des Diabetes mellitus, Band I
J.F. Lehmanns Verlag, München, 1969
74. Fujimoto, W.Y. , R.H. Williams:
Insulin Release from Cultured Fetal Human Pancreas
Endocrinology 91 (1972), 1133-1136
75. Fujita, Y. , A.R. Chacra, A.L. Herron, H.S. Seltzer:
Influence of Antecedent Carbohydrate Intake on the Biphasic
Insulin Response to Intravenous Glucose
Diabetes 24 (1975), 1072-1080
76. Fußgänger, R.D. , R. Goberna, M. Hinz, P. Jaros, C. Karsten,
E.F. Pfeiffer, S. Raptis:
Comparative Studies on the Dynamics of Insulin Secretion
Following HB 419 and Tolbutamide of the Perfused Isolated
Rat Pancreas and the Perfused Isolated Pieces and Islets
of Rat Pancreas
Horm. Metab. Res. 1 (1969), 34-40
77. Fußgänger, R.D. , K. Straub, R. Goberna, P. Jaros,
K.E. Schröder, S. Raptis, E.F. Pfeiffer:
Primary Secretion of Insulin and Secondary Release of Glucagon
from the Isolated Perfused Rat Pancreas Following Stimulation
with Pancreozymin
Horm. Metab. Res. 1 (1969), 224-227
78. Gagliardino, J.J. , J.M. Martin:
Studies on the Mechanism of Insulin Release
Metabolism 15 (1966), 1068-1075
79. Genuth, S. , H.E. Lebovitz:
Stimulation of Insulin Release by Corticotropin
Endocrinology 76 (1965), 1093-1099
80. Goldfinger, St. , J.R. Klinenberg, J.E. Seegmiller:
Renal Retention of Uric Acid Induced by Infusion of Beta-
Hydroxybutyrate and Acetoacetate
New Engl. J. Med. 272 (1965), 351-355

81. Greene, E. Ch.:
Anatomy of the Rat
Hafner Publishing Company, New York and London, 1968
82. Griffith, J. Q.:
General Methods
in: Farris, E.J., J. Q. Griffith: The Rat in Laboratory
Investigation, 2nd ed.
J. B. Lippincott Company, Philadelphia, London, Montreal, 1949
83. Griffiths, M.:
Uric Acid Diabetes
J. Biol. Chem. 172 (1948), 853-854
84. Griffiths, M.:
The Mechanism of the Diabetogenic Action of Uric Acid
J. Biol. Chem. 184 (1950), 289-298
85. Grill, V., E. Cerasi:
Stimulation by D-Glucose of Cyclic Adenosine 3':5'-Monophos-
phate Accumulation and Insulin Release in Isolated Pancreatic
Islets of the Rat
J. Biol. Chem. 249 (1974), 4196-4201
86. Grodsky, G. M., P. H. Forsham:
An Immunochemical Assay of Total Extractable Insulin in Man
J. Clin. Invest. 39 (1960), 1070-1079
87. Grodsky, G. M., L. Bennett, A. Batts, N. McWilliams,
C. Vcella:
Insulin Secretion from Isolated Perfused Pancreas
Fed. Proc. 21 (1962), 202
88. Grodsky, G. M., A. A. Batts, L. L. Bennett, C. Vcella,
N. B. McWilliams, D. F. Smith:
Effects of Carbohydrates on Secretion of Insulin from Isolated
Rat Pancreas
Am. J. Physiol. 205 (1963), 638-644

89. Grodsky, G. M. , L. L. Bennett:
Insulin Secretion from the Isolated Pancreas in Absence of
Insulinogenesis: Effect of Glucose
P. S. E. B. M. 114 (1963), 769-771
90. Grodsky, G. M. , L. L. Bennett:
Cation Requirements for Insulin Secretion in the Isolated
Perfused Pancreas
Diabetes 15 (1966), 910-913
91. Grodsky, G. M. , L. L. Bennett, D. Smith, K. Nemecek:
The Effect of Tolbutamide and Glucose on the Timed Release
of Insulin from the Isolated Perfused Pancreas
in: Butterfield, W. J. H. , W. van Westering: Tolbutamide ... after
Ten Years
Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1967, 11-21
92. Grodsky, G. M. , L. L. Bennett, D. F. Smith, K. Nemecek:
Interrelationship of Glucose, Tolbutamide and Time on Insulin
Release in Vitro
Diabetes 16 (1967), 509-510
93. Grodsky, G. M. , L. L. Bennett, D. F. Smith, F. G. Schmid:
Effect of Pulse Administration of Glucose or Glucagon on Insulin
Secretion in Vitro
Metabolism 16 (1967), 222-233
94. Grodsky, G. M. , D. L. Curry, L. L. Bennett, J. J. Rodrigo:
Factors Influencing Different Rates of Insulin Release in Vitro
Acta Diab. Latina 5 (1968), 140-161
95. Grodsky, G. M. , D. Curry, L. Bennett:
Die Wirkung von HB 419 auf die Insulinsekretion in vitro
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum
HB 419, 27. bis 29. Januar 1969, S. 54
96. Grodsky, G. M. , D. Curry, H. Landahl, L. Bennett:
Further Studies on the Dynamic Aspects of Insulin Release in
Vitro with Evidence for a Two-Compartmental Storage System
Acta Diab. Latina 6 (1969), 554-579

97. Grodsky, G. M. , H. Landahl, D. Curry, L. Bennett:
In Vitro Studies Suggesting a Two-Compartmental Model
for Insulin Secretion
in: Falkmer, S. , B. Hellman , I. -B. Täljedal: The Structure
and Metabolism of the Pancreatic Islets
Pergamon Press, Oxford, 1969, 409-421
98. Grodsky, G. M. , H. Landahl, D. Curry, L. Bennett:
A Two-Compartmental Model for Insulin Secretion
in: Camerini-Dávalos, R. A. , H. S. Cole: Early Diabetes
Academic Press, New York, 1970, 45-50
99. Grodsky, G. M. , J. Lee, R. Fanska, D. Smith:
Insulin Secretion from the in vitro Perfused Pancreas of
the Rat: Effect of Ro 6-4563 and other Sulfonylureas
in: Dubach, U. C. , A. Bückert: Recent Hypoglycemic
Sulfonylureas. Mechanisms of Action and Clinical Indications
Huber, Bern, 1971, 83-96
100. Grodsky, G. M. :
A Threshold Distribution Hypothesis for Packet Storage of
Insulin and Its Mathematical Modeling
J. Clin. Invest. 51 (1972), 2047-2059
101. Grodsky, G. M. :
A Threshold Distribution Hypothesis for Packet Storage of
Insulin
II. Effect of Calcium
Diabetes 21 (1972), 584-593
102. Grodsky, G. M. , R. Fanska, F. G. Schmid:
Evaluation of the Role of Exogenous Insulin on Phasic Insulin
Secretion
Diabetes 22 (1973), 256-263
103. Grodsky, G. M. , R. Fanska, L. West, M. Manning:
Anomeric Specificity of Glucose-Stimulated Insulin Release:
Evidence for a Glucoreceptor?
Science 186 (1974), 536-538

104. Grodsky, G. M. :

Secretion of Insulin - A. The Kinetics of Insulin Release
in: Hasselblatt, A. , F.v. Bruchhausen: Insulin II
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1975

105. Grodsky, G. M. , R.E. Fanska:

The in Vitro Perfused Pancreas
Methods in Enzymology 39 (1975), 364-372

106. Grodsky, G. M. , R. Fanska, I. Lundquist:

Interrelationships between Alpha- and Beta-Anomers of Glucose
Affecting both Insulin and Glucagon Secretion in the Perfused
Rat Pancreas. II.
Endocrinology 97 (1975), 573-580

107. Grube, K. :

Zur Aetiologie des sogenannten Diabetes mellitus
Ztschr. f. klin. Med. 27 (1895), 465-474

108. Grunert, R.R. , P.H. Phillips:

Uric Acid Diabetes in the Rat
P.S.E.B.M. 76 (1951), 642-645

109. Grunert, R.R. , P.H. Phillips:

The Inability of Liver Homogenates to Convert Uric Acid to
Alloxan
J. Biol. Chem. 191 (1951), 633-638

110. Günther, R. , E. Knapp:

Zur Klinik und Therapie der Gicht unter besonderer Berücksichti-
gung der Stoffwechselwirkungen von Sulfipyrazon (Anturan^R)
und Allopurinol (Zyloric^R)
Wien. klin. Wschr. 81 (1969), 817-820

111. Hahn, H.J. , R. Michael:

Untersuchungen an Langerhansschen Inseln in vitro
V. Die Hemmung der glukoseinduzierten Insulinsekretion durch
endogenes Insulin in vitro
Endokrinologie 57 (1970), 98-107

112. Hahn, H. J., B. Ziegler, R. Butter, M. Ziegler, M. Henkel, H. Fiedler:
Untersuchungen an Langerhansschen Inseln in vitro
VII. Vergleichende Untersuchungen zur Stimulation der Insulinsekretion durch unterschiedliche Substrate bei der Ratte
Endokrinologie 61 (1973), 258-264
113. Hales, C. N., P. J. Randle:
Immunoassay of Insulin with Insulin-Antibody Precipitate
Biochem. J. 88 (1963), 137-146
114. Hasslacher, Ch., P. Wahl, J. Vollmar:
Diabetes und Hyperurikämie
Dtsch. med. Wschr. 99 (1974), 2506-2510
115. Henninges, D., D. P. Mertz:
Urikopathie von Jugendlichen - Besonderheiten im klinischen Bild
Münch. Med. Wschr. 113 (1971), 458-462
116. Herman, J. B.:
Gout and Diabetes
Metabolism 7 (1958), 703-706
117. Herman, J. B., F. W. Mount, J. H. Medalie, J. J. Groen, T. D. Dublin, N. H. Neufeld, E. Riss:
Diabetes Prevalence and Serum Uric Acid
Diabetes 16 (1967), 858-868
118. Herman, J. B., A. Keynan:
Hyperglycemia and Uric Acid
Israel J. med. Sci. 5 (1969), 1048-1052
119. Herman, J. B., J. H. Medalie, U. Goldbourt:
Diabetes, Prediabetes and Uricaemia
Diabetologia 12 (1976), 47-52
120. Hofmann, G.:
A. Haig's Harnsäurestudien
Prag. Med. Wschr. 28 (1889), 1-9

121. Howell, S. L. , K. W. Taylor:
Effects of Diazoxide on Insulin Secretion in vitro
Lancet I (1966), 128-129
122. Howell, S. L. , K. W. Taylor:
The Secretion of Newly Synthesized Insulin in vitro
Biochem. J. 102 (1967), 922-927
123. Howell, S. L. , K. W. Taylor:
Potassium Ions and the Secretion of Insulin by Islets of
Langerhans Incubated in vitro
Biochem. J. 108 (1968), 17-24
124. Idahl, L. A. , B. Hellman:
Regulation of Pancreatic Beta-Cell Glycogen through
Cyclic-3,5-AMP
Diabetologia 7 (1971), 139-142
125. Idahl, L. A. , J. Sehlin, I. -B. Täljedal:
Metabolic and Insulin-Releasing Activities of D-Glucose
Anomers
Nature 254 (1975), 75-77
126. Ishmael, W.K. :
The Familial Aspects of Gout, Diabetes Mellitus and Obesity
J. Okla. Med. Assoc. 38 (1945); 415-418
127. Ishmael, W.K. , J. N. Owens, R. W. Pavne, M. D. Honick:
Diabetes Mellitus in Patients with Gouty Arthritis
JAMA 190 (1964), 396-398
128. Isotopen Dienst West GmbH:
Radioimmunologische Bestimmung von Insulin - Arbeitsanleitung
für den CIS-Reagenziensatz
Insik-3, 1977
129. Iversen, J. , D. W. Miles:
Evidence for a Feedback Inhibition of Insulin on Insulin Secretion
in the Isolated, Perfused Canine Pancreas
Diabetes 20 (1971), 1-9

130. Iversen, J. :
Effect of Acetyl Choline on the Secretion of Glucagon and
Insulin from the Isolated, Perfused Canine Pancreas
Diabetes 22 (1973), 381-387
131. Jaffé, R. :
Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen
Laboratoriumstiere
Verlag von Julius Springer, Berlin, 1931
132. Jamieson, J. D. , G. E. Palade:
Role of the Golgi Complex in the Intracellular Transport of
Secretory Proteins
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 55 (1966), 424-431
133. Johnson, D. C. , W. Y. Fujimoto, R. H. Williams:
Enhanced Release of Insulin by Prostaglandins in Isolated
Pancreatic Islets
Diabetes 22 (1973), 658-663
134. Joost, H. G. , J. Beckmann:
Inhibition of Insulin Release by Cyproheptadine in vitro
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 287 (1975), R 59
135. Joost, H. G. , J. Beckmann, S. Holze, S. Lenzen, W. Poser ,
A. Hasselblatt:
Inhibition of Insulin and Glucagon Release from the Perfused Rat
Pancreas by Cyproheptadine (Periactinol^R, Nuran^R)
Diabetologia 12 (1976), 201-206
136. Joslin, E. P. , H. F. Root, P. White, A. Marble:
The Treatment of Diabetes Mellitus, 9th ed.
Lea and Febiger, Philadelphia, 1952
137. Junod, A. , J. Letarte, A. E. Lambert, W. Stauffacher:
Studies in Spiny Mice (Acomys Cahirinus): Metabolic State and
Pancreatic Insulin Release in Vitro
Horm. Metab. Res. 1 (1969), 45-52

138. Knick, B., H. J. Lange, U. Ritter, F. Schilling:
Adipositas, Hypertriglyzeridämie, Fettleber und latenter
Diabetes bei Gichtpatienten
Therapiewoche 18 (1968), 2071-2072
139. Krejci, K.:
Radioimmunochemische Methoden in der Labor-Praxis
Schweiz. Z. Med. Tech. Laborfachpers. 1 (1973), 1-5
140. Kuzell, W. C., R. W. Schaffarzick, W. E. Naugler, P. Koets,
E. A. Mankle, B. Brown, B. Champlin:
Some Observations on 520 Gouty Patients
J. Chron. Dis. 2 (1955), 645-669
141. Lacy, P. E.:
Electron Microscopy of the Beta Cell of the Pancreas
Amer. J. Med. 31 (1961), 851-859
142. Lacy, P. E.:
The Pancreatic Beta Cell - Structure and Function
New Engl. J. Med. 276 (1967), 187-195
143. Lacy, P. E., M. Kostianovsky:
Method for the Isolation of Intact Islets of Langerhans from the
Rat Pancreas
Diabetes 16 (1967), 35-39
144. Lacy, P. E., S. L. Howell, D. A. Young, C. J. Fink:
New Hypothesis of Insulin Secretion
Nature 219 (1968), 1177-1179
145. Lacy, P. E., D. A. Young, C. J. Fink:
Studies on Insulin Secretion in Vitro from Isolated Islets
of the Rat Pancreas
Endocrinology 83 (1968), 1155-1161
146. Lacy, P. E.:
Beta Cell Secretion - from the Standpoint of a Pathobiologist
Diabetes 19 (1970), 895-905

147. Lacy, P.E., S.L. Howell:
The Mechanism of Emiocytic Insulin Release
in: Falkner, S., B. Hellman, I. -B. Täljedal: The Structure
and Metabolism of the Pancreatic Islets
Pergamon Press, Oxford, 1970, 171-180
148. Lacy, P.E., M.L. McDaniel, C.J. Fink, C. Roth:
Effect of Methylxanthines on Alloxan Inhibition of Insulin Release
Diabetologia 11 (1975), 501-507
149. Lambert, A.E., B. Jeanrenaud, A.E. Renold:
Enhancement by Caffeine of Glucagon-Induced and Tolbutamide-
Induced Insulin Release from Isolated Foetal Pancreatic Tissue
Lancet I (1967), 819-820
150. Lambert, A.E., B. Jeanrenaud, A. Junod, A.E. Renold:
Organ Culture of Fetal Rat Pancreas - II. Insulin Release
Induced by Amino and Organic Acids, by Hormonal Peptides,
by Cationic Alterations of the Medium and by Other Agents
Biochim. Biophys. Acta 184 (1969), 540-553
151. Lambert, A.E., A. Junod, W. Stauffacher, B. Jeanrenaud,
A.E. Renold:
Organ Culture of Fetal Rat Pancreas - I. Insulin Release
Induced by Caffeine and by Sugars and Some Derivatives
Biochim. Biophys. Acta 184 (1969), 529-539
152. Lambert, A.E., Y. Kanazawa, J.B. Halter, L. Orci,
C. Rouiller, A.E. Renold:
Insulin Release from Fetal and Newborn Rat Pancreas in Vitro:
Role of the Adenyl Cyclase System
Acta Diab. Latina 7 (1970), 229-261
153. Landgraf, R., J. Kotler-Brajtburg, F.M. Matschinsky:
Kinetics of Insulin Release from the Perfused Rat Pancreas
Caused by Glucose, Glucosamine and Galactose
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68 (1971), 536-540

154. Laube, H. , R. Fussgänger, R. Goberna, K. Schröder, K. Straub, K. Sussman, E.F. Pfeiffer:
Effects of Tolbutamide on Insulin and Glucagon Secretion of the Isolated Perfused Rat Pancreas
Horm. Metab. Res. 3 (1971), 238-242
155. Laube, H. , H. Schatz, C. Nierle, R. Fussgänger, E.F. Pfeiffer:
Insulin Secretion and Biosynthesis in Sucrose Fed Rats
Diabetologia 12 (1976), 441-446
156. Lazarus, S.S. , B.W. Volk:
Ultrastructural Aspects of the Function of Rabbit Beta-Cells in: Falkmer, S. , B. Hellman, I.-B. Täljedal: The Structure and Metabolism of the Pancreatic Islets
Pergamon Press, Oxford, 1970, 159-170
157. Lebovitz, H.E. , K. Pooler:
ACTH-Mediated Insulin Secretion: Effect of Aminophylline
Endocrinology 81 (1967), 558-564
158. Lee, J.C. , G.M. Grodsky, L.L. Bennett, D.F. Smith-Kyle, L. Craw:
Ultrastructure of Beta-Cells during the Dynamic Response to Glucose and Tolbutamide in vitro
Diabetologia 6 (1970), 542-549
159. Lenzen, S. , H.G. Joost, A. Hasselblatt:
The Inhibition of Insulin Secretion from the Perfused Rat Pancreas after Thyroxine Treatment
Diabetologia 12 (1976), 495-500
160. Loubatières, A. , M.M. Mariani, R. Alric, J. Chapal:
Antagonistic Mechanism of Actions of Tolbutamide and Diazoxide on Insulin Secretion
in: Butterfield, W.J.H. , W. van Westering: Tolbutamide ... after Ten Years
Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1967, 100-113
161. Loubatières, A. , M.M. Mariani, R. Alric, J. Chapal, A. Portal:
Antagonisme entre le diazoxide et le tolbutamide sur l'insulino-sécrétion. Etude in vitro sur le pancréas isolé et perfusé du Rat
C.R. Soc. Biol. 161 (1967), 1755-1759

162. Loubatières, A.:

Stimulators and Inhibitors of Insulin Secretion - Physiological and Pharmacological Interferences, Synergisms and Antagonisms
Acta Diab. Latina 5 (1968), 220-255

163. Loubatières, A.:

Physiological and Pharmacological Aspects of the Central Role of the Pancreas in the Mode of Action of Hypoglycemic Sulfonamides
Acta Diab. Latina 6 (1969), 216-255

164. Loubatières, A., M.M. Mariani, G. Ribes, H. de Malbosc, J. Chapal:

Etude expérimentale d'un nouveau sulfamide hypoglycémiant particulièrement actif, le HB 419 ou glibenclamide
I. Action bêta-cytotrope et insulino-sécrétrice
Diabetologia 5 (1969), 1-10

165. Loubatières, A., M.M. Mariani, J. Chapal:

Insulino-sécrétion étudiée sur le pancréas isolé et perfusé du rat - I. Synergie entre glucose et sulfamides hypoglycémians
Diabetologia 6 (1970), 457-466

166. Loubatières-Mariani, M.M., J. Chapal, R. Alric, A. Loubatières:

Studies of the Cholinergic Receptors Involved in the Secretion of Insulin Using Isolated Perfused Rat Pancreas
Diabetologia 9 (1973), 439-446

167. Luff, A. P.:

Gout, ed. 3
William Wood and Co., Baltimore, 1907

168. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae, P.H. Wright:

Insulin Secretion by the Pancreas in Vitro
Progr. 48th Meet., The Endocrine Soc. Abstr. 104 (1966)

169. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae, D. Mayhew:

A Possible Role for the Adenylcyclase System in Insulin Secretion
J. Clin. Invest. 46 (1967), 1724-1734

170. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae, P.H. Wright:
A New Method for the Measurement in Vitro of Pancreatic
Insulin Secretion
Endocrinology 80 (1967), 99-108
171. Malaisse, W.J., M.A. Lea, F. Malaisse-Lagae:
The Effect of Mannoheptulose on the Phosphorylation of
Glucose and the Secretion of Insulin by Islets of Langerhans
Metabolism 17 (1968), 126-132
172. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae:
Stimulation of Insulin Secretion by Noncarbohydrate
Metabolites
J. Lab. Clin. Med. 72 (1968), 438-448
173. Malaisse, W.J., G. Brisson, F. Malaisse-Lagae:
The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin
Release - I. Interaction of Epinephrine and Alkaline Earth
Cations
J. Lab. Clin. Med. 76 (1970), 895-902
174. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae:
A Possible Role for Calcium in the Stimulus-Secretion
Coupling for Glucose-Induced Insulin Secretion
Acta Diab. Latina 7 (1970), 509
175. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae:
Biochemical, Pharmacological, and Physiological Aspects of
the Adenylcyclase-Phosphodiesterase System in the Pancreatic
Beta-Cells
in: Falkmer, S., B. Hellman, I.-B. Täljedal: The Structure
and Metabolism of the Pancreatic Islets
Pergamon Press, Oxford, 1970, 435-444
176. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae, G. Brisson:
The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin
Release - II. Interaction of Alkali and Alkaline Earth Cations
Horm. Metab. Res. 3 (1971), 65-70

177. Malaisse, W.J. :
Insulin Secretion: Multifactorial Regulation for a Single
Process of Release
Diabetologia 9 (1973), 167-173
178. Malaisse, W.J., G.R. Brisson, L.E. Baird:
Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin
Release - X. Effect of Glucose on 45 Ca Efflux from
Perifused Islets
Am. J. Physiol. 224 (1973), 389-394
179. Malaisse, W.J., E. Van Obberghen, G. Devis, G. Somers,
M. Ravazzola:
Dynamics of Insulin Release and Microtubular-Microfilamentous
System - V. A Model for the Phasic Release of Insulin
Europ. J. clin. Invest. 4 (1974), 313-318
180. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae, E. Van Obberghen,
G. Somers, G. Devis, M. Ravazzola, L. Orci:
Role of Microtubules in the Phasic Pattern of Insulin Release
Ann. N.Y. Acad. Sci. 253 (1975), 630-652
181. Malaisse, W.J., A. Herchuelz, J. Levy, A. Sener,
D.G. Pipeleers, G. Devis, G. Somers, E. Van Obberghen:
The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin
Release - XIX. The Insulinotropic Effect of Glyceraldehyde
Molecular and Cellular Endocrinology 4 (1976), 1-12
182. Malaisse-Lagae, F., G.R. Brisson, W.J. Malaisse:
The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin
Release - VI. Analogy between the Insulinotropic Mechanisms
of Sugars and Amino Acids
Horm. Metab. Res. 3 (1971), 374-378
183. Malaisse-Lagae, F., M.H. Greider, W.J. Malaisse,
P.E. Lacy:
The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin
Release - IV. The Effect of Vincristine and Deuterium Oxide
on the Microtubular System of the Pancreatic Beta-Cell
J. Cell. Biol. 49 (1971), 530-535

184. Malaisse-Lagae, F., W.J. Malaisse:
Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin
Release - III. Uptake of ⁴⁵ Calcium by Isolated Islets of
Langerhans
Endocrinology 88 (1971), 72-80
185. Maldonado, A., A.E. Renold, G.W.G. Sharp, E. Cerasi:
Glucose-Induced Proinsulin Biosynthesis - Role of Islet
Cyclic AMP
Diabetes 26 (1977), 538-545
186. Mariani, M.-M. :
The Action of Sulfonylureas on the Insulin Secretion of the
Perfused Rat Pancreas
Acta Diab. Latina 6 (1969), 256-270
187. Martinez, C. :
Influencia de algunos compuestos puricos y pirimidicos sobre
la diabetes aloxanica
Rev. Soc. Argent. Biol. 26 (1950), 89-98
188. Maske, H. :
Über die Beziehungen zwischen Insulin und Zink in den Langer-
hansschen Inseln des Pankreas
Experientia 11 (1955), 122-128
189. Maske, H. :
Interaction between Insulin and Zinc in the Islets of Langerhans
Diabetes 6 (1957), 335-341
190. Matschinsky, F.M., R. Landgraf, J. Ellerman,
J. Kotler-Brayburg:
Glucoreceptor Mechanisms in Islets of Langerhans
Diabetes 21 (1972), 555-569
191. Matschinsky, F.M., A.S. Pagliara, B.A. Hover, M.W. Haymond,
S.N. Stillings:
Differential Effects of Alpha- and Beta-D-Glucose on Insulin and
Glucagon Secretion from the Isolated Perfused Rat Pancreas
Diabetes 24 (1975), 369-372

192. Matthews, E.K., P.M. Dean:
Electrical Activity in Islet Cells
in: Falkmer, S., B. Hellman, I.-B. Täljedal: The Structure
and Metabolism of the Pancreatic Islets
Pergamon Press, Oxford, 1970, 305-313
193. Mehnert, H., G. Schäfer, G. Kaliampetos, K. Stuhlfauth,
W. Engelhardt:
Die Insulinsekretion des Pankreas bei extracorporaler Perfusion
II. Mitteilung: Durchströmungen der Bauchspeicheldrüse mit
Periston, Glucose, Carbutamid und Biguaniden
Klin. Wschr. 40 (1962), 1146-1151
194. Mertz, D.P., I. Sulzberger, M. Klöpfer:
Diabetes mellitus, Hyperlipidämie, Fettleber, Hypertension
bei primärer Gicht und deren Beeinflussung durch Benzbromaronum
Münch. med. Wschr. 112 (1970), 241-247
195. Mertz, D.P., G. Babucke:
Epidemiologie und klinisches Bild der primären Gicht
Münch. med. Wschr. 113 (1971), 617-624
196. Mikkelsen, W.M. :
The Possible Association of Hyperuricemia and/or Gout with
Diabetes Mellitus
Arthritis and Rheumatism 8 (1965), 853-864
197. Mikkelsen, W.M., H.J. Dodge, H. Valkenburg:
The Distribution of Serum Uric Acid Values in a Population
Unselected as to Gout or Hyperuricemia - Tecumseh,
Michigan, 1959-1960
Am. J. Med. 39 (1965), 242-251
198. Milner, R.D.G., C.N. Hales:
The Role of Calcium and Magnesium in Insulin Secretion from
Rabbit Pancreas Studied in Vitro
Diabetologia 3 (1967), 47-49

199. Milner, R. D. G. :

The Mechanism by which Leucine and Arginine Stimulate
Insulin Release in Vitro
Biochim. Biophys. Acta 192 (1969), 154-156

200. Milner, R. D. G. , M. A. Ashworth, A. J. Barson:

Insulin Release from Human Foetal Pancreas in Vitro
Horm. Metab. Res. 3 (1971), 353-354

201. Montague, W. , K. W. Taylor:

Pentitols and Insulin Release by Isolated Rat Islets of
Langerhans
Biochem. J. 109 (1968), 333-339

202. Montague, W. , J. R. Cook:

Adenosine 3':5'-Cyclic Monophosphate and Insulin Release
Biochem. J. 120 (1970), 9-10

203. Montague, W. , J. R. Cook:

The Role of Adenosine 3':5'-Cyclic Monophosphate in the
Regulation of Insulin Release by Isolated Rat Islets of
Langerhans
Biochem. J. 122 (1971), 115-120

204. Narins, R. G. , J. S. Weisberg, A. R. Myers:

Effects of Carbohydrates on Uric Acid Metabolism
Metabolism 23 (1974), 455-465

205. Niki, A. , H. Niki, I. Miwa, J. Okuda:

Insulin Secretion by Anomers of D-Glucose
Science 186 (1974), 150-151

206. Niki, A. , H. Niki, I. Miwa, B. J. Lin:

Interaction of Alloxan and Anomers of D-Glucose on Glucose-
induced Insulin Secretion and Biosynthesis in Vitro
Diabetes 25 (1976), 574-579

207. Ninomiya, R. , Y. Miura, K. Kosaka, K. Nakao, S. Okinaka:

Stimulatory Effect of Chelating Agents and Mesoxalate on the *in*
Vivo Release of Insulin in the Pancreas of the Dog - The
Possible Role of Amino Acids
Diabetes 15 (1966), 44-50

208. Noorden von, C. :
Die Zuckerkrankheit und ihre Behandlung, 5. Auflage
Verlag von August Hirschwald, Berlin, 1910
209. Norfleet, W. T. , A. S. Pagliara, M. W. Haymond,
F. Matschinsky:
Comparison of Alpha- and Beta-Cell Secretory Responses in
Islets Isolated with Collagenase and in the Isolated Perfused
Pancreas of Rats
Diabetes 24 (1975), 961-970
210. Orci, L. , W. Stauffacher, D. Beaven, A. E. Lambert,
A. E. Renold, Ch. Rouiller:
Eventi ultrastrutturali connessi con l'azione della tolbutamide
e della glibenclamide sulle cellule B del pancreas in vivo ed in
vitro
Acta Diab. Latina 6 (1969), 409
211. Orci, L. , K. H. Gabbay, W. J. Malaisse:
Pancreatic Beta-Cell Web: Its Possible Role in Insulin Secretion
Science 175 (1972), 1128-1130
212. Pace, C. S. , S. Price:
Electrical Responses of Pancreatic Islet Cells to Secretory
Stimuli
Biochem. Biophys. Res. Commun. 46 (1972), 1557-1563
213. Padova, J. , G. Bendersky:
Hyperuricemia in Diabetic Ketoacidosis
New Eng. J. Med. 267 (1962), 530-534
214. Pagliara, A. S. , S. N. Stillings, B. Hover, D. M. Martin,
F. M. Matschinsky:
Glucose Modulation of Amino Acid-Induced Glucagon and Insulin
Release in the Isolated Perfused Rat Pancreas
J. Clin. Invest. 54 (1974), 819-832
215. Pfeiffer, E. F. , F. Melani, H. Ditschuneit, K. Schöffling:
Radioimmunologische Bestimmung des Insulins
Bull. Schw. Akad. Med. Wiss. 21 (1965), 276-297

216. Pfeiffer, E. F., M. Telib, J. Ammon, F. Melani,
H. Ditschuneit:
Direkte Stimulierung der Insulin-Sekretion in vitro durch
Sekretin
Dtsch. med. Wschr. 90 (1965), 1663-1669
217. Pfeiffer, E. F. :
Current Pathophysiological and Clinical Aspects of the Mode
of Action of Blood Glucose Lowering Sulfonamides
Acta Diab. Latina 6 (1969), 477-504
218. Porte, D., R. H. Williams:
Inhibition of Insulin Release by Norepinephrine in Man
Science 152 (1966), 1248-1250
219. Pozza, G., G. Galansino, H. Hoffeld, P. P. Foa:
Stimulation of Insulin Output by Monosaccharides and
Monosaccharide Derivatives
Amer. J. Physiol. 192 (1958), 497-500
220. Rabinowitch, I. M. :
An Unusual Case of Diabetes and Gout
Canad. Med. Ass. J. 19 (1928), 682-686
221. Randle, P. J., F. G. Young:
The Influence of Pituitary Growth Hormone on Plasma Insulin
Activity
J. Endocrin. 13 (1956), 335-348
222. Rappaport, A. M., S. Ohira, J. A. Coddling, G. Empey,
A. Kalnins, B. J. Lin, R. E. Haist:
Effects on Insulin Output and on Pancreatic Blood Flow of
Exogenous Insulin Infusion into an in Situ Isolated Portion
of the Pancreas
Endocrinology 91 (1972), 168-176

223. R-Candela, J.L. , R. R -Candela, D. Martin-Hernández,
T. Castilla-Cortazar:
Beta-Hydroxybutyrate and Sodium Citrate as Stimuli of the
in Vitro Secretion of Insulin
Nature 195 (1962), 711-712
224. R-Candela, J.L. , M.C. Garcia-Fernandez:
Stimulation of Secretion of Insulin by Adenosine-triphosphate
Nature 197 (1963), 1210
225. Sachs, L. :
Statistische Auswertungsmethoden, 3. Auflage
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1972
226. Sams, D.J. , W. Montague:
The Role of Adenosine 3':5'-Cyclic Monophosphate in the
Regulation of Insulin Release
Biochem. J. 129 (1972), 945-952
227. Schäfer, G. , H. Mehnert, G. Kaliampetsos, G. Faust,
E. Gruber:
Die Insulinsekretion des Pankreas bei extracorporaler
Perfusion
I. Mitteilung: Material und Methodik, Voruntersuchungen,
Kritik und Diskussion
Klin. Wschr. 40 (1962), 1141-1145
228. Schmidt, F.H. :
Enzymatische Methoden zur Bestimmung von Blut- und
Harnzucker unter Berücksichtigung von Vergleichsunter-
suchungen mit klassischen Methoden
Internist 4 (1963), 554-559
229. Schmidt, R. , J. Methfessel, R. Schultka, D. Apel:
Morphologische und biochemische Untersuchungen zur
Wirkung von Barbitursäure, Ureidobornsteinsäure,
Orotsäure, Uracil und Thymin auf den diabetogenen
Effekt des Alloxans
Z.f. Zellforsch. 84 (1968), 9-23

230. Schönborn, J., P. Westphal, U. Panten:
Insulin Release from the Isolated Perfused Rat Pancreas
Induced by L-Leucine, 2-Aminonorbomane-2-carboxylic
Acid and Alpha-Ketoisocaproic Acid
Horm. Metab. Res. 7 (1975), 127-131
231. Seckel, H. :
Beobachtungen über heredofamiliäre und konstitutionelle
Häufung von Stoffwechselleiden beim Diabetes mellitus
Z. f. klin. Medizin 102 (1925), 195-228
232. Senft, G., W. Losert, G. Schultz, R. Sitt, H.K. Bartelheimer:
Ursachen der Störungen im Kohlenhydratstoffwechsel unter
dem Einfluß sulfonamidierter Diuretica
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. u. exp. Path. 255
(1966), 369-382
233. Skeith, M.D., L.A. Healey, R.E. Cutler:
Urate Excretion During Mannitol and Glucose Diuresis
J. Lab. Clin. Med. 70 (1967), 213-220
234. Sodoyez, J.-C., F. Sodoyez-Goffaux, P.P. Foa:
Feedback Regulation of Insulin Secretion by Insulin:
Role of 3', 5'-Cyclic AMP
in: Falkmer, S., B. Hellman, I.-B. Täljedal: The Structure
and Metabolism of the Pancreatic Islets
Pergamon Press, Oxford, 1970, 445-451
235. Steiner, D.F., D. Cunningham, L. Spigelman, B. Aten:
Insulin Biosynthesis: Evidence for a Precursor
Science 157 (1967), 697-700
236. Sussman, K.E., G.D. Vaughan, R.F. Timmer:
An in Vitro Method for Studying Insulin Secretion in the
Perfused Isolated Rat Pancreas
Metabolism 15 (1966), 466-476
237. Sussman, K.E., G.D. Vaughan, R.F. Timmer:
Factors Controlling Insulin Secretion from the Perfused
Isolated Rat Pancreas
Diabetes 15 (1966), Abstr. 28

238. Sussman, K.E., G.D. Vaughan:
Insulin Release after ACTH, Glucagon and Adenosine-3'-5'-
Phosphate (Cyclic AMP) in the Perfused Isolated Rat
Pancreas
Diabetes 16 (1967), 449-454
239. Taminato, T., Y. Seino, Y. Goto, Y. Inoue, S. Kadowaki,
K. Mori, M. Nozawa, H. Yajima, H. Imura:
Synthetic Gastric Inhibitory Polypeptide - Stimulatory
Effect on Insulin and Glucagon Secretion in the Rat
Diabetes 26 (1977), 480-484
240. Taniguchi, H., M. Utsumi, M. Hasegawa, T. Kobayashi,
Y. Watanabe, K. Murakami, M. Seki, A. Tsutou,
H. Makimura, M. Sakoda, S. Baba:
Physiologic Role of Somatostatin - Insulin Release from Rat
Islets Treated by Somatostatin Antiserum
Diabetes 26 (1977), 700-702
241. Thefeld, W., H. Hoffmeister, E.-W. Busch, P.U. Koller,
J. Vollmar:
Normalwerte der Serumharnsäure in Abhängigkeit von Alter
und Geschlecht mit einem neuen enzymatischen Harnsäure-
farbtest
Dtsch. m. Wschr. 98 (1973), 380-384
242. Thiele, P., G. Heidelmann, A. Gärtner, V. Schneider, F.
Tellkamp:
Aktuelle Gichtprobleme
Zschr. inn. Med. 25 (1970), 458-463
243. Tomita, T., D.G. Scarpelli:
Interaction of Cyclic AMP and Alloxan on Insulin Secretion
in Isolated Rat Islets Perfused in Vitro
Endocrinology 100 (1977), 1327-1333
244. Turner, D.S., V. Marks:
Enhancement of Glucose-Stimulated Insulin Release by an
Intestinal Polypeptide in Rats
Lancet I (1972), 1095-1097

245. Turner, D.S., L. Etheridge, V. Marks, J.C. Brown, V. Mutt:
Effectiveness of the Intestinal Polypeptides, IRP, GIP, VIP and Motilin on Insulin Release in the Rat
Diabetologia 10 (1974), 459-463
246. Turtle, J.R., D.M. Kipnis:
An Adrenergic Receptor Mechanism for the Control of Cyclic 3'5' Adenosine Monophosphate Synthesis in Tissues
Biochem. Biophys. Res. Comm. 28 (1967), 797-802
247. Turtle, J.R., G.K. Littleton, D.M. Kipnis:
Stimulation of Insulin Secretion by Theophylline
Nature 213 (1967), 727-728
248. Ueber, F.:
Die Stoffwechselkrankheiten in der Praxis, 3. Auflage
J.F. Lehmanns Verlag, München, Berlin, 1939
249. Vance, J.E., K.D. Buchanan, R.H. Williams:
Glucagon and Insulin Release - Influence of Drugs Affecting the Autonomic Nervous System
Diabetes 20 (1971), 78-82
250. Weiss, T.E., A. Segaloff, Ch. Moore:
Gout and Diabetes
Metabolism 6 (1957), 103-106
- 250.a Wexler, B.C., B.P. Greenberg:
Effect of Increased Serum Urate Levels on Virgin Rats with no Arteriosclerosis Versus Breeder Rats with Preexistent Arteriosclerosis
Metabolism 26 (1977), 1309-1320
251. Whitehouse, F.W., W.J. Cleary:
Diabetes Mellitus in Patients with Gout
JAMA 197 (1966), 113-116

252. Whytt, R. :
The Works of Robert Whytt
Becket, Edinburgh, 1768
253. Wolters, G.H.J. , W. Konijnendijk, P.R. Bouman:
Effects of Fasting on Insulin Secretion, Islet Glucose
Metabolism, and the Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate
Content of Rat Pancreatic Islets in Vitro
Diabetes 26 (1977), 530-537
254. Wong, K.K. , S. Symchowicz, M.S. Staub, I.I.A. Tabachnick:
The in Vitro Effect of Catecholamines, Diazoxide and
Theophylline on Insulin Release
Life Sciences 6 (1967), 2285-2291
255. Yalow, R.S. , S.A. Berson:
Immunoassay of Endogenous Plasma Insulin in Man
J. Clin. Invest. 39 (1960), 1157-1175
256. Zawulich, W.S. , R.C. Karl, J.A. Ferrendelli,
F.M. Matschinsky:
Factors Governing Glucose Induced Elevation of Cyclic
3'5' AMP Levels in Pancreatic Islets
Diabetologia 11 (1975), 231-235
257. Zimmermann, G. , O. Boeckl, E. Hell:
In vitro-Perfusion als Modell zur Untersuchung von Hämodynamik und Metabolismus revascularisierter Duodenopankreas-Transplantate
Chirurg 42 (1971), 554-558

Für die freundliche Überlassung des Themas und die wertvolle Unterstützung, die mir bei der Durchführung dieser Arbeit jederzeit zuteil wurde, sage ich Herrn Oberarzt Priv. Doz. Dr. med. W. Grabner aufrichtig meinen ganz besonderen Dank.

Herrn Prof. Dr. med. V. Becker danke ich für Anfertigung und Beurteilung der histologischen Präparate, Herrn Dr. med. J. F. Riemann für die Durchführung der elektronenoptischen Untersuchungen.

Lebenslauf

Am 6. Juni 1950 wurde ich als Sohn des Apothekers Hans Worliceck und seiner Ehefrau Ilse, geb. Lick, in Würzburg geboren. Von 1956 bis 1961 besuchte ich in Cham die Knaben-Volksschule. Anschließend trat ich in Kelheim in das Donau-Gymnasium ein, das ich 1970 mit Abschluß der Reifeprüfung verließ. Nach einem halbjährigen Praktikum in der Stadt-Apotheke in Kelheim entschloß ich mich zum Studium der Medizin, das ich im Sommersemester 1971 an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg begann und im Februar 1977 mit dem Staatsexamen abschloß. In der Folgezeit beendete ich die während des Studiums begonnene Arbeit an meiner Dissertation. Von September bis Dezember 1977 arbeitete ich als Medizinalassistent an der Medizinischen Universitätsklinik in Erlangen, von Januar bis August 1978 an der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Lauf. Am 8. September 1978 erhielt ich die Approbation als Arzt. Seit Juni 1977 bin ich verheiratet.

Erlangen, im Oktober 1978

Hans Worliceck

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hoegl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990